

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**Σχολή Γεωπονικών Επιστημών**  
**Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού Περιβάλλοντος**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«Αειφόρος Αγροτική Παραγωγή και Διαχείριση Περιβάλλοντος»**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ**  
**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**«Μελέτη ανάπτυξης των φυματίων και επίδραση τους στην παραγωγικότητα εννέα γονοτύπων φακής σε συνθήκες οργανικής γεωργίας και αβιοτικές καταπονήσεις σε έξι γονοτύπους φακής»**



**ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ**

**ΒΟΛΟΣ 2018**

**«ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΤΩΝ ΦΥΜΑΤΙΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ  
ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΤΗΤΑ ΕΝΝΕΑ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΦΑΚΗΣ ΣΕ ΣΥΝΘΗΚΕΣ  
ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ ΣΕ ΕΞΙ  
ΓΟΝΟΤΥΠΟΥΣ ΦΑΚΗΣ»**

**ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ**

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

- **Επιβλέπων:** **Χα Ιμπραχίμ-Αβραάμ**, Καθηγητής Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- **Μέλη:** **Παυλή Ουρανία**, επίκουρος καθηγήτρια Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- **Βλαχοστέργιος Δημήτριος**, ερευνητής ινστιτούτου ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ Λάρισας

Copyright © ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ, 2018

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ' ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό με κερδοσκοπικό εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της Μεταπτυχιακής Διατριβής Ειδίκευσης από το Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δε δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η διεκπεραίωση της παρούσας διατριβής δεν θα ήταν εφικτή χωρίς την συμβολή των καθηγητών και των συναδέλφων μου. Έτσι, ολοκληρώνοντας αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους στάθηκαν δίπλα μου και με βοήθησαν να φτάσω στο τελικό αυτό αποτέλεσμα.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής μου. Πρώτο από όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Ιμπραχίμ-Αβραάμ Χα, για την επιστημονική και ηθική του στήριξη καθώς και την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπο μου. Η συνεισφορά του στην επιλογή του θέματος και η καθοδήγησή του για την καλύτερη δομή της κρίθηκε ανεκτίμητη.

Ευχαριστώ θερμά την επίκουρο καθηγήτρια του Εργαστηρίου γενετικής βελτίωσης κυρία Παυλή Ουρανία για την πολύτιμη βοήθειά της, την συμβολή της στην επιλογή του θέματος, την συνεχή καθοδήγηση της και την άριστη συνεργασία μας σε όλα τα στάδια του θεωρητικού και πειραματικού τμήματος αυτής της διατριβής.

Ευχαριστώ τον κύριο Δημήτριο Βλαχοστέργιο, ερευνητή του Ινστιτούτου ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, για την επιλογή του θέματος, την οργάνωση, την επίβλεψη, την βοήθεια στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων και τη συνεχή καθοδήγησή του κατά την διάρκεια όλων των σταδίων της εργασίας μου. Τον ευχαριστώ επίσης και για την ηθική υποστήριξη, τις χρήσιμες συμβουλές του και την προθυμία του να παρέχει όποια βοήθεια χρειαζόμουν καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος.

Ευχαριστώ την συνάδελφο και υποψήφιο διδάκτορα Χρύσα Φώτη για την άριστη συνεργασία μας κατά την διεξαγωγή τμήματος των πειραμάτων καθώς και για τις συμβουλές και την βοήθειά της κατά τη συγγραφή.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την φίλη μου Δέσποινα, που με την ατελείωτη αγάπη της, την υποστήριξή της και τη συμπαράστασή της ήταν δίπλα μου καθ' όλη τη διάρκεια και ήταν, είναι και θα είναι πάντα «ο άνθρωπός μου».

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα τους γονείς μου Καλλιόπη και Βασίλη καθώς και τον αδερφό μου Γιώργο, για την ηθική και υλική τους υποστήριξη και συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Χρωστάω σε όλους ένα μεγάλο ευχαριστώ!

## Περίληψη

Σκοπός της εργασίας ήταν η ανάπτυξη ενός πρωτοκόλλου μελέτης και παρατήρησης της ανάπτυξης των φυματίων στη φακή, η διερεύνηση της ύπαρξης γενετικής παραλλακτικότητας ως προς τον αριθμό φυματίων και αλλά χαρακτηριστικά της ρίζας και η συσχέτισή τους με την παραγωγικότητα.

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν σπόροι τριών Ελληνικών (Δήμητρα, Θεσσαλία, Σάμος) και τεσσάρων Γαλλικών ποικιλιών (Rosana, Anicia, Santa, Flora) και 2 Ελβετικών τοπικών πληθυσμών φακής (Kleine Schwarze, Spaths Albinse Klein) οι οποίοι σπάρθηκαν σε φυτοδοχεία. Δεν έγινε λίπανση ούτε και εργασίες φυτοπροστασίας κατά τη διάρκεια του πειράματος. Έγιναν 5 δειγματοληψίες του ριζικού συστήματος στα βλαστικά στάδια: 1ο, 4ο, 8ο σύνθετο φύλλο, εμφάνιση ταξιανθιών και πλήρης άνθιση. Μετρήθηκε ο αριθμός φυματίων, το μήκος ριζικού συστήματος (στα 3 πρώτα βλαστικά στάδια), όγκος και ξηρό βάρος ριζών (στάδιο πλήρους άνθισης). Στο στάδιο της πλήρους ωρίμανσης του σπόρου μετρήθηκε η απόδοση σε σπόρο, το βάρος υπέργειας βιομάζας, το άζωτο υπέργειας βιομάζας και σπόρου και ο δείκτης συγκομιδής (HI). Τέλος, υπολογίστηκε και η αζωτοδέσμευση. Οι μετρήσεις των ανωτέρω χαρακτηριστικών σε κάθε βλαστικό στάδιο προέρχονταν από 16-20 ατομικά φυτά ανά ποικιλία.

Αναπτύχθηκε τεχνική προετοιμασίας των ριζών για ηλεκτρονική σάρωση και μέτρηση των χαρακτηριστικών της ρίζας με χρήση του προγράμματος Image J.

Παρατηρήθηκε σημαντική παραλλακτικότητα μεταξύ των ποικιλιών ως προς τον αριθμό των φυματίων και τον ρυθμό ανάπτυξης τους. Ο αριθμός των φυματίων (στάδιο πλήρους άνθισης) κυμάνθηκε από 281 έως 136, με τις ποικιλίες Anicia και Rosana να καταλαμβάνουν τις πρώτες θέσεις. Οι Ελληνικές ποικιλίες έδειξαν γρήγορη αύξηση του αριθμού των φυματίων καταλαμβάνοντας τις 3 πρώτες θέσεις μέχρι και το στάδιο του 8ου σύνθετου φύλλου, χωρίς ωστόσο να συνεχίσουν στον ίδιο ρυθμό. Ο μέσος ρυθμός αύξησης των φυματίων μεταξύ των βλαστικών σταδίων ήταν 51% (1ο-4ο σύνθετο φύλλο), 56% (4ο-8ο σύνθετο φύλλο), 355% (8ο σύνθετο φύλλο-εμφάνιση ταξιανθιών) και 30% (εμφάνιση ταξιανθιών-πλήρης άνθιση). Όλες οι ποικιλίες ακολούθησαν το ανωτέρω πρότυπο αύξησης των φυματίων εκτός από την ποικιλία Δήμητρα, που εμφάνισε αύξηση των φυματίων κατά 361% μεταξύ του 4ου και 8ου σύνθετου φύλλου.

Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των ποικιλιών και ως προς το μήκος του ριζικού συστήματος και τον ρυθμό αύξησης του. Στο βλαστικό στάδιο του 8ου σύνθετου φύλλου το μήκος των ριζών κυμάνθηκε από 29,3 έως 245,1εκ. με την ποικιλία Δήμητρα να καταλαμβάνει την πρώτη θέση. Ο μέσος ρυθμός αύξησης του μήκους των ριζών μεταξύ των βλαστικών σταδίων ήταν 23% (1ο-4ο σύνθετο φύλλο) και 90% (4ο-8ο σύνθετο φύλλο). Υψηλή συσχέτιση καταγράφηκε μεταξύ του μήκους των ριζών και του αριθμού των φυματίων ( $R=0.963^*$ ).

Ως προς την απόδοση σε σπόρο βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες. Η ποικιλία Σάμος έδωσε την μεγαλύτερη απόδοση σε σπόρο ακολουθούμενη από την ποικιλία Δήμητρα. Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση του αριθμού φυματίων και της απόδοσης σε σπόρο για όλες τις δειγματοληψίες με την τιμή του συντελεστή συσχέτισης κατά την πλήρη άνθιση να είναι  $R=0,3$ .

Η ποικιλία Σάμος παρουσίασε την μεγαλύτερη αζωτοδέσμευση χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες ποικιλίες. Καταγράφηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του  $N$  που προέρχεται από την αζωτοδέσμευση με το  $N$  της υπέργειας βιομάζας ( $R=0,808^*$ ) και το  $N$  του σπόρου ( $R=0,838^*$ ).

Συμπερασματικά, παρατηρήθηκε αξιόλογη ποικιλιακή παραλλακτικότητα ως προς τον αριθμό και τον ρυθμό αύξησης των φυματίων και την έκταση και τον ρυθμό αύξησης του ριζικού συστήματος των ποικιλιών αναδεικνύοντας δυο κύριους τύπους ποικιλιών ως προς τα ανωτέρω χαρακτηριστικά. Η θετική συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ του αριθμού των φυματίων με την απόδοση σε σπόρο θα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω και να συμπεριληφθεί στους στόχους των σύγχρονων βελτιωτικών προγραμμάτων.

Η αλατότητα είναι μια από τις πιο σοβαρές περιβαλλοντικές καταπονήσεις, επηρεάζοντας αρνητικά την παραγωγικότητα των ευαίσθητων σε αλατότητα καλλιεργειών. Ακόμη, η φακή είναι μια οικονομικά σημαντική καλλιέργεια που συχνά υποφέρει από ανεπάρκεια υγρασίας του εδάφους. Δεδομένου ότι η βλάστηση είναι η πιο κρίσιμη φάση του κύκλου ζωής των φυτών, το δεύτερο μέρος της μελέτης στοχεύει στον προσδιορισμό του δυναμικού βλάστησης των σπόρων και των συναφών χαρακτηριστικών, υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας και ξηρασίας σε πρώιμο στάδιο.

Το γενετικό υλικό αποτελούταν από έξι ποικιλίες φακής. Η καταπόνηση αλατότητας εφαρμόστηκε με την προσθήκη NaCl σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα (0 mM, 50 mM, 100 mM, 200 mM). Η καταπόνηση της ξηρασίας προκλήθηκε από διαφορετικές συγκεντρώσεις πολυαιθυλενικής γλυκόλης (PEG6000: 0%, 5%, 10% and 20%).

Όσον αφορά την καταπόνηση αλατότητας, το σύνολο των δεδομένων υποδεικνύει ότι επηρεάζει ουσιαστικά όλα τα γνωρίσματα που σχετίζονται με την βλάστηση και την πρώιμη ανάπτυξη, με τα αποτελέσματα να εξαρτώνται από το επαγόμενο στρες. Η ποικιλία Σάμος αποδείχτηκε η πιο ανθεκτική. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν επίσης ότι η καταπόνηση της ξηρασίας επηρεάζει ουσιαστικά τις παραμέτρους που σχετίζονται με τη βλάστηση και την πρώιμη ανάπτυξη με την επίδραση να είναι ανάλογη του επιπέδου του επαγόμενου στρες. Επίσης, γονοτυπικές διαφορές ήταν προφανείς με τις ποικιλίες Ελπίδα, Σάμος και Θεσσαλία να είναι οι πιο ανθεκτικές και την ποικιλία Flip 03-24L η πιο ευαίσθητη.

Συμπερασματικά, ο προσδιορισμός της βλάστησης των σπόρων και του πρώιμου αναπτυξιακού δυναμικού μπορεί να αξιοποιηθεί ως αποτελεσματική στρατηγική για να αποκαλυφθεί η γενετική διαφοροποίηση που υπάρχει στο γενετικό υλικό με άγνωστη αντοχή στην καταπόνηση της αλατότητας και της ξηρασίας. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει την επιλογή επιθυμητών γονοτύπων σε πρώιμα στάδια ανάπτυξης, επιτρέποντας έτσι την διεξαγωγή σχετικών διαδικασιών βελτίωσης με πιο αποτελεσματικό τρόπο.

**Λέξεις Κλειδιά:** απόδοση σε σπόρο, ριζικό σύστημα, ποικιλίες, αλατότητα, PEG (πολυαιθυλενική γλυκόλη), πρώιμη επιλογή γονοτύπων

## SUMMARY

The aim of the research was to develop a protocol for the study and observation of the development of nodules in lentil, to investigate the existence of genetic variation in the number of nodules and other characteristics of the root and their correlation with productivity.

The plant material used was seeds of three Greek varieties (Dimitra, Thessalia, Samos), four French (Rosana, Anicia, Santa, Flora) and two Swiss landraces (Kleine Schwarze, Spaths Albinise klein) which were planted in potsters. No fertilization or plant protection procedures were applied during the experimentation.

Five samplings of the root system were taken in the following stages: 1<sup>st</sup>, 4<sup>th</sup>, 8<sup>th</sup> composite leaf, beginning of inflorescence and full bloom. Number of nodules was measured, length of the root system (on first three vegetative stages), volume and dry weight of the roots (full bloom). Seed yield, above ground biomass, nitrogen of above ground biomass and the harvest index (HI) were measured at the stage of full seed maturity. Finally, nitrogen fixation was also calculated. The measurements of the above-mentioned characteristics in every vegetative stage were taken from 16-20 individual plants per variety. A technique for preparing roots for electronic scanning and measurement of root features was developed using the program Image J.

Significant variability was observed between varieties in terms of number of nodules and their growth rate. The number of nodules (full bloom stage) ranged from 136 to 281, while the varieties Anicia and Rosana ranked in the top. Greek varieties showed a rapid increase in the number of nodules, occupying the three first places up to the stage of the 8<sup>th</sup> composite leaf, without nevertheless continuing at the same pace. The average nodule growth rate between vegetative stages was 51% (1<sup>st</sup> to 4<sup>th</sup> composite leaf), 56% (4<sup>th</sup> to 8<sup>th</sup> composite leaf), 355% (8<sup>th</sup> composite leaf to emergence of inflorescence) and 30% (emergence of inflorescence to full bloom). All varieties followed the above pattern of nodule growth except for Dimitra, which showed a 361% nodule increase between 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> composite leaf stage.

Significant differences were observed among varieties regarding the length of root system and its growth rate. At the 8<sup>th</sup> composite leaf stage root length ranged from 29,3 to 245,1 cm with Dimitra variety occupying the first place. The average root growth rate between vegetative stages was 23% (1<sup>st</sup> to 4<sup>th</sup> composite leaf) and 90% (4<sup>th</sup> to 8<sup>th</sup>



composite leaf). High correlation was recorded between the length of the root system and number of nodules ( $R=0.963^*$ ).

Significant differences were detected between varieties for seed yield. Variety Samos had the highest seed yield, followed by Dimitra. A positive correlation between the number of nodules and seed yield was observed at all vegetative stages, with the correlation coefficient at the full bloom stage being  $R=0.3$ .

Variety Samos exhibited the highest nitrogen fixation value, but there was no significant difference with the other varieties. A significant correlation between N derived from nitrogen fixation with the above ground N ( $R=0.808^*$ ) and the seed N ( $R=0.838^*$ ) was recorded.

In conclusion, remarkable genotypic variability was observed for the number and growth rate of nodules and the extend and roots growth rate, highlighting two main types of varieties in relation to the above characteristics. The positive correlation observed between the number of nodules and seed yield should be further studied and proposed as a potential breeding target for the modern lentil breeding programs.

Salinity is one of the most severe environmental stresses, negatively affecting productivity of salt sensitive crop species. Also, lentil is an economically important crop which often suffers from inadequate soil moisture. Given that germination is a most critical phase in plant lifecycle, the second part of the study is aimed at the determination of seed germination potential, and associated traits, under salt and drought stress conditions as a short-cut approach to identify salt and drought tolerant lentil genotypes at an early stage.

The genetic material consisted of six lentil genotypes. Salinity stress was applied by the addition of NaCl at three different levels of stress (0 mM, 50 mM, 100 mM, 200 mM). Drought stress was induced by varying concentrations of polyethylene glycol (PEG6000: 0%, 5%, 10% and 20%). Evaluation of tolerance was performed on the basis of germination percentage, seed water absorbance, root and shoot length, seedling water content, number of seedlings with abnormal phenotype and seedling vigor index.

Overall findings revealed that salinity stress substantially affects all traits associated to germination and early seedling growth, with the effect of salinity being depended on the level of stress induced. Samos proved the most salt tolerant cultivar. Our findings also revealed that drought stress substantially affects parameters associated to

germination and growth, with its effect being analogous to the stress level applied. Genotypic differences also were evident, with cultivars Elpida, Samos and Thessalia appearing as the most tolerant and cultivar Flip 03-24L as the least tolerant genotypes.

In conclusion, the determination of seed germination and early growth potential may be exploited as an efficient strategy to reveal genetic variation existing in lentil germplasm of unknown tolerance to salinity and drought stress. This approach allows for the selection of desirable genotypes at early growth stages, thus enabling the conduction of relative breeding procedures in a more efficient manner.

**Keywords:** Seed yield, root system, varieties, salinity, PEG (polyethylene glycol), early selection

Εγώ, η Αναστασία Παπαδοπούλου, είμαι ο συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από εμένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ' ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο Προπτυχιακό ή Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιδρυμάτων Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος.

Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από την κα Παπαδοπούλου Αναστασία.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

### 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1	
Γενικά.....	14
1.2. Ταξινόμηση και καταγωγή.....	15
1.3.Βοτανική Περιγραφή.....	18
1.3.1 Ριζικό σύστημα .....	19
1.3.2 Βλαστοί και φύλλα.....	21
1.3.3 Άνθη, λοβοί, σπόροι.....	22
1.4. Αύξηση και ανάπτυξη.....	23
1.5.Οικολογία.....	25
1.6.Παραγωγή και αποδόσεις - Ελλάδα και Παγκοσμίως.....	26
1.7. Αζωτοδέσμευση.....	28
1.7.1 Εισαγωγικά.....	28
1.7.2 Φυσιολογία Αζωτοδέσμευσης στη φακή.....	31
1.7.3 Σχηματισμός φυματίων στη φακή (μηχανισμός).....	32
1.7.4 Παράγοντες που επηρεάζουν.....	34
1.8 Δείκτης συγκομιδής.....	40
1.9 Αβιοτικές καταπονήσεις.....	41
1.9.1 Γενικά.....	41
1.9.2 Καταπόνηση αλατότητας.....	42
1.9.3 Καταπόνηση ξηρασίας.....	44
1.10 Σκοπός της εργασίας.....	46

### 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Μελέτη ανάπτυξης των φυματίων και επίδραση τους στην παραγωγικότητα.....	48
2.1.1 Γενετικό υλικό.....	48
2.1.2 Εγκατάσταση πειράματος.....	48
2.1.3 Προετοιμασία του ριζικού συστήματος για ανάλυση.....	50
2.1.4 Υπολογισμός αζώτου.....	51

2.1.5 Στατιστική ανάλυση.....	51
2.2 Αβιοτικές Καταπονήσεις.....	52
2.2.1 Γενετικό υλικό.....	52
2.2.2 Εγκατάσταση πειράματος.....	53
2.2.3 Μετρήσεις.....	54
2.2.4 Στατιστική ανάλυση.....	55
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	
3.1 Μελέτη ανάπτυξης των φυματίων και επίδραση τους στην παραγωγικότητα.....	55
3.2 Καταπόνηση ξηρασίας επαγόμενης από PEG.....	64
3.2.1 Ποσοστό βλάστησης.....	66
3.2.2 Περιεχόμενη υγρασία (WC) και απορρόφηση νερού από τον σπόρο(WU).....	67
3.2.3 Μήκος βλαστού και ριζιδίου.....	68
3.3 Καταπόνηση αλατότητας.....	70
3.3.1 Ποσοστό βλάστησης.....	71
3.3.2 Περιεχόμενη υγρασία (WC) και απορρόφηση νερού από τον σπόρο (WU).....	74
3.3.3 Μήκος βλαστού και ριζιδίου .....	76
<b>4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	
4.1 Μελέτη ανάπτυξης των φυματίων και επίδραση τους στην παραγωγικότητα.....	78
4.2 Καταπόνηση ξηρασίας επαγόμενης από PEG.....	86
4.3 Καταπόνηση αλατότητας.....	88
<b>5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>92</b>

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Γενικά

Η φακή (*Lens culinaris* Medik.) είναι ένα από τα σημαντικότερα ψυχανθή που καλλιεργείται σε πολλές χώρες παγκοσμίως (Erskine *et al.*, 2009) και χρησιμοποιείται στη διατροφή του ανθρώπου ως τρόφιμο υψηλής θρεπτικής αξίας (Pliadis, 2003). Ο σπόρος της φακής αποτελεί πλούσια πηγή πρωτεϊνών, μεταλλικών στοιχείων (K, P, Fe, Zn) και βιταμινών (Bhatty, 1988). Συγκεκριμένα, η φακή περιέχει 25% πρωτεΐνη, 0.7% λιπαρά, και 59% υδατάνθρακες (Afzal *et al.*, 1999).

Η φακή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στη διατροφή των ανθρώπων όσο και των ζώων, ενώ ταυτόχρονα συμβάλλει και στη διατήρηση και τη βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους (Sarker A. *et al.*, 2001; Frederick M. *et al.*, 2006). Η καλλιέργειά της εμπλουτίζει προσθέτοντας θρεπτικά όπως άζωτο, άνθρακα και οργανική ύλη, η οποία προωθεί τα αειφόρα συστήματα καλλιέργειας με βάση τα δημητριακά (Sarker A. *et al.*, 2001). Καλλιεργείται για τους σπόρους της (Iqbal A. *et al.*, 2006) και μια μικρή ποσότητα χαμηλής ποιότητας σπόρων χρησιμοποιείται στη διατροφή των πουλερικών. Το άχυρο της φακής είναι επίσης μια πολύτιμη ζωοτροφή (Erskine *et al.*, 1990).

Η φακή είναι το αρχαιότερο καλλιεργούμενο όσπριο (Rehman *et al.*, 1994). Η διατήρηση της καλλιέργειας ανά τους αιώνες, από την αρχαία ως το Μεσαίωνα και μέχρι σήμερα, οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι αναπτύσσεται σε φτωχά εδάφη και υπό δυσμενείς κλιματολογικές συνθήκες. Σε πολλές περιπτώσεις μάλιστα, αποτελεί τη μοναδική πηγή πρωτεΐνης για τους αγρότες (Cubero *et al.*, 2009). Η φακή είναι ένα σημαντικό ψυχανθές στα καλλιεργητικά συστήματα της περιοχής της Μεσογείου, επειδή είναι μια πηγή υψηλής ποιότητας πρωτεΐνης στην διατροφή του ανθρώπου και των ζώων (Katerji *et al.*, 2001).

Στην Ελλάδα, η καλλιέργεια των οσπρίων ακολούθησε φθίνουσα πορεία μετά την είσοδο της χώρας στην ΕΕ, με αποτέλεσμα η παραγωγή να είναι ελλειμματική και η κάλυψη των εγχώριων αναγκών κατανάλωσης να απαιτεί την εισαγωγή προϊόντων από άλλες χώρες παραγωγής τους. Ειδικότερα, η καλλιέργεια της φακής εντοπίζεται στη Δυτική Μακεδονία, στις περιοχές Λάρισας-Φαρσάλων και Λαμίας-Δομοκού καθώς και στην Ορεστιάδα, ενώ παραδοσιακά διατηρείται η καλλιέργεια στην Εγκλουβή Λευκάδας.

Η μεγαλύτερη συλλογή γονότυπων φακών (> 10 000) υπάρχει στο ICARDA (Διεθνές Κέντρο Γεωργικών Ερευνών στις Ξηρές Περιοχές, [www.icarda.org](http://www.icarda.org)), στη Συρία (Sarker *et al.*, 2002a). Σημαντικές συλλογές μεγαλύτερων από 2000 γονοτύπων υπάρχουν επίσης στην Ινδία, τις ΗΠΑ και τη Ρωσία, ενώ αρκετές χώρες όπως η Βουλγαρία, η Κίνα και η Ισπανία διαθέτουν πολύ μικρότερες συλλογές (Muehlbauer *et al.*, 1995; Stoilova και Pereira 1999; De La Rosa *et al.*, 2005 ). Πολλές από αυτές τις συλλογές έχουν αξιολογηθεί για παραλλαγές στη φαινολογία, τη μορφολογία και τις παραμέτρους ανάπτυξης. Έχουν βρεθεί θετικοί συσχετισμοί μεταξύ του μεγέθους των σπόρων, του ύψους των φυτών, του πλάτους της φυτοκάλυψης των φυτών, του αριθμού των παραγωγικών κλάδων / λοβών / σπόρων ανά φυτό, της συνολικής βιομάζας, της απόδοσης σε σπόρο και των υπολειμματικών ποσοτήτων (Erskine 1985, 1996, 1997; Stoilova and Pereira 1999). Οι γονοτυπικές διαφορές εντοπίστηκαν επίσης στο χρόνο ανθοφορίας και συγκομιδής, στην αντίδραση της ανθοφορίας στην φωτοπερίοδο, στην ευαισθησία σε χαμηλές και υψηλές θερμοκρασίες και στην ανθεκτικότητα σε ασθένειες (Erskine 1985 1997).

Σε παγκόσμιο επίπεδο, οι κυριότεροι περιορισμοί στην απόδοση της φακής είναι η ξηρασία (συνήθως συνδέεται με υψηλή θερμοκρασία), η χαμηλή θερμοκρασία και η ασθένειες, ενώ άλλοι παράγοντες όπως η καταπόνηση αλατότητας, η ανεπάρκεια θρεπτικών ουσιών και η τοξικότητα των θρεπτικών συστατικών είναι σημαντικοί σε τοπικό επίπεδο (Muehlbauer *et al.*, 2006; Tivoli *et al.*, 2006). Τα προγράμματα βελτίωσης της φακής σε παγκόσμιο επίπεδο επικεντρώνονται κυρίως στην αύξηση της παραγωγικότητας, στη σταθερότητα της απόδοσης, την προσαρμοστικότητα σε περιβάλλοντα καταπονήσεων και την ανθεκτικότητα στις ασθένειες. Συγκεκριμένα, στο ICARDA βρίσκεται εν εξελίξει βελτιωτικό πρόγραμμα, όπου συμμετέχουν πολλές χώρες παραγωγής φακής, που στοχεύει στην ανάπτυξη ποικιλιών φακής που



παρουσιάζουν ικανοποιητική ανάπτυξη και παραγωγικότητα σε ποικίλες αγροοικολογικές συνθήκες (Sarker *et al.*, 2002a, b, ICARDA 2005).

## 1.2 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΓΩΓΗ

Το επιστημονικό όνομα της φακής είναι *Lens culinaris* (L.) Medic. subsp. *culinaris*. Το φυτό έλαβε την επιστημονική ονομασία *Lens culinaris* (L.) Medic το 1787 από τον Medikus, Γερμανό βοτανολόγο και ιατρό (Cubero, 1981, Sehirali, 1988, Hanelt, 2001). Συνώνυμα με τα οποία αναφερόταν παλαιότερα, είναι τα *Evrum lens* L. και *Lens esculenta* Moench (Wiersema και Leon, 1999). Ανήκει στην οικογένεια Fabaceae η οποία περιλαμβάνει όλα τα ψυχανθή.

Η φακή είναι ένα από τα πρώτα εξημερωμένα φυτικά είδη, και τα ευρήματά της είναι τόσο παλιά όσο αυτά του μονόκοκκου σιταριού, του δίκοκκου σιταριού, του κριθαριού και του μπιζελιού (Harlan, 1992). Η προέλευσή της είναι η Εγγύς Ανατολή και εξαπλώθηκε ταχέως στην Αίγυπτο, την κεντρική και νότια Ευρώπη, τη Λεκάνη της Μεσογείου, την Αιθιοπία, το Αφγανιστάν, την Ινδία και το Πακιστάν, την Κίνα και αργότερα εξαπλώθηκε στο Νέο Κόσμο, συμπεριλαμβανομένης της Λατινικής Αμερικής (Cubero 1981; Duke 1981; Ladizinsky, 1979).

Η καλλιέργεια της φακής στην Ελλάδα είναι γνωστή από την αρχαιότητα. Συγκεκριμένα, η εξάπλωση του άγριου είδους της φακής (*L. culinaris* ssp. *orientalis*) εκτείνεται από την Ελλάδα έως το Ουζμπεκιστάν και από τη χερσόνησο της Κριμαίας έως την Ιορδανία.



**Εικόνα 1:** Χάρτης με τις περιοχές που εντοπίστηκαν αρχαιολογικά ευρήματα φακής και η πορεία εξάπλωσής της (Sonnante *et. al.*, 2009)

Η ταξινόμηση της φακής έχει ως εξής:

Βασίλειο	Plantae -Φυτά
Υποβασίλειο	Tracheobionta (Αγγειακά φυτά)
Υπερσυνομοταξία	Spermatophyta (Σπερματοφύτα)
Συνομοταξία	Magnoliophyta (Αγγειόσπερα)
Ομοταξία	Magnoliopsida (Δικοτυλήδονα)
Υφομοταξία	Rosidae (Ροδιδες)
Τάξη	Fabales (Κυαμώδη)
Οικογένεια	Fabaceae (Κυαμοειδή)
Γένος	<i>Lens</i> Mill. (Φακός)
Είδος	<i>Lens culinaris</i> Medik (Φακή)

(Anonymous, 2012).

Όπως αναφέρει ο Cubero (1984), ο πρώτος που ασχολήθηκε με την ταξινόμηση της καλλιεργούμενης φακής ήταν ο Alefeld, 1866, ο οποίος αποδέχτηκε δύο είδη, *L. orientalis* και *L. nigricans* και αναγνώρισε οκτώ υποείδη: (i) spp. schniffspahni (ii) spp. himalayensis (iii) spp. punctata (iv) spp. hypochloris (v) spp. nigra (vi) spp. vulgaris (vii) spp. nummularia και (viii) spp. abyssinica. Η παραπάνω ταξινόμηση ήταν δυσχερής, καθώς ο αριθμός των υποειδών ήταν πολύ μεγάλος. Ωστόσο, η συνεισφορά του Alefeld ήταν σπουδαία, διότι κατάφερε να μειώσει σημαντικά τον αριθμό των ειδών.

Σύμφωνα με τον Cubero (1984), η πρώτη λεπτομερής και ολοκληρωμένη προσπάθεια έγινε από την Barulina, 1930. Αυτή διέκρινε δύο υποείδη, σύμφωνα με το μέγεθος του σπόρου, που είναι ο βασικός στόχος της ανθρώπινης επιλογής. Για να κατατάξει τις καλλιεργούμενες φακές σε υποείδη βασίστηκε κυρίως στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των λοβών και των σπόρων, το μήκος των ανθέων, το μέγεθος των φυλλαρίων και το ύψος των φυτών (Cubero, 1984). Οι ποικιλίες της φακής μπορούν να ομαδοποιηθούν σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με το μέγεθος των σπόρων:

(α) μικρόσπερμες, με σχετικά μικρούς και διογκωμένους λοβούς ( $6-15 \times 3,5-7,0$  mm) και μικρούς σπόρους, διαμέτρου 2-6 mm και

(β) μεγαλόσπερμες, με αρκετά μεγάλους και πεπλατυσμένους λοβούς (15-20 × 7,5-10,5 mm) και μεγάλους σπόρους με διάμετρο που κυμαίνεται από 6-9 mm.

Σύμφωνα με αναφορές, η μετατροπή του είδους σε καλλιεργούμενο συνοδεύτηκε από τη μείωση της διάρρηξης των λοβών αλλά τη σταδιακή αύξηση του μεγέθους των σπόρων. Ωστόσο, και οι δύο κατηγορίες φακής είναι ελεύθερα διασταυρούμενες, με αποτέλεσμα να απαντάται ένα μεγάλο εύρος μεγεθών σπόρων στις καλλιεργούμενες ποικιλίες. Στην Ελλάδα, ο Ηλιάδης (1992) αναφέρει μία ενδιάμεση κατηγορία φακής, γνωστή ως μεσόσπερμη.

Έχουν πραγματοποιηθεί πολλές έρευνες σχετικά με την εύρεση της προέλευσης της καλλιεργούμενης φακής. Οι περισσότερες από αυτές βασίστηκαν σε μορφολογικά χαρακτηριστικά, μοριακούς δείκτες όπως RFLP, RAPD καθώς και αναλύσεις που αφορούν το χλωροπλαστικό DNA. Το σύνολο των σχετικών ερευνών υποδεικνύει ότι η καλλιεργούμενη φακή έχει κοινά χαρακτηριστικά και προέρχεται από τον άγριο πρόγονό της *L. culinaris* ssp. *orientalis* (Sonnante *et al.*, 2009).

Από μορφολογικής άποψης, έχει αποδειχθεί ότι το άγριο είδος *Lens culinaris* spp. *orientalis* είναι πολύ στενά συγγενικό με το *Lens culinaris* και πιθανόν να είναι όντως ο πρόγονός του, ενώ το *L. nigricans* παρουσιάζει αρκετές διαφορές από το *Lens culinaris* και το *Lens culinaris* spp. *orientalis* (Barulina, 1930; Williams *et al.*, 1974). Με βάση όμως την ικανότητα διασταύρωσης και τη γονιμότητα των παραγόμενων υβριδίων, τα διάφορα είδη του γένους *Lens* κατατάσσονται σε δύο βοτανικά είδη, στο *L. culinaris* και στο *L. nigricans* (Ladizinsky *et al.*, 1984). ). Οι Ferguson *et al.*, (2000) σε μια πιο πρόσφατη ταξινόμηση που βασίστηκε στη χρήση μορφολογικών και μοριακών δεικτών, θεώρησε ότι τόσο το *odemensis* όσο και το *tomentosus* ως υποείδη του *L. culinaris* και προτάθηκε η ταξινόμηση του γένους *Lens* σε 7 είδη/υποείδη:

1. *Lens culinaris* Medikus (a) subsp. *culinaris* (b) subsp. *orientalis* (Boiss.) Ponert (c) subsp. *tomentosus* (Ladiz.) (d) subsp. *odemensis* (Ladz.)
2. *Lens ervoides* (Brign.) Grande
3. *Lens nigricans* (M. Bieb) Godr.
4. *Lens lamottei* Czefr

Αυτή η ονοματολογία χρησιμοποιείται αυτή τη στιγμή από το Εθνικό Κέντρο Βιοτεχνολογικών Πληροφοριών (NCBI).

### 1.3 ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Η φακή είναι διπλοειδές είδος ( $2n = 14$ ) (Muehlbauer, 1991). Είναι αυτογονιμοποιούμενο ετήσιο είδος με μέγεθος απλοειδούς γονιδιώματος 4063 Mbp (Arumuganathan and Earle, 1991).

Το φυτό είναι ακαθόριστης ανάπτυξης και παρουσιάζει σημαντικές διακυμάνσεις στον τρόπο ανάπτυξης, από μονό στέλεχος και όρθια έως ημι-όρθια και συμπαγή ανάπτυξη σε πολύ διακλαδισμένες χαμηλές θαμνοειδείς μορφές, κυρίως ανάλογα με τον γονότυπο, αν και οι περιβαλλοντικές συνθήκες επηρεάζουν την έκφραση αυτών των χαρακτήρων (Saxena και Hawtin, 1981).

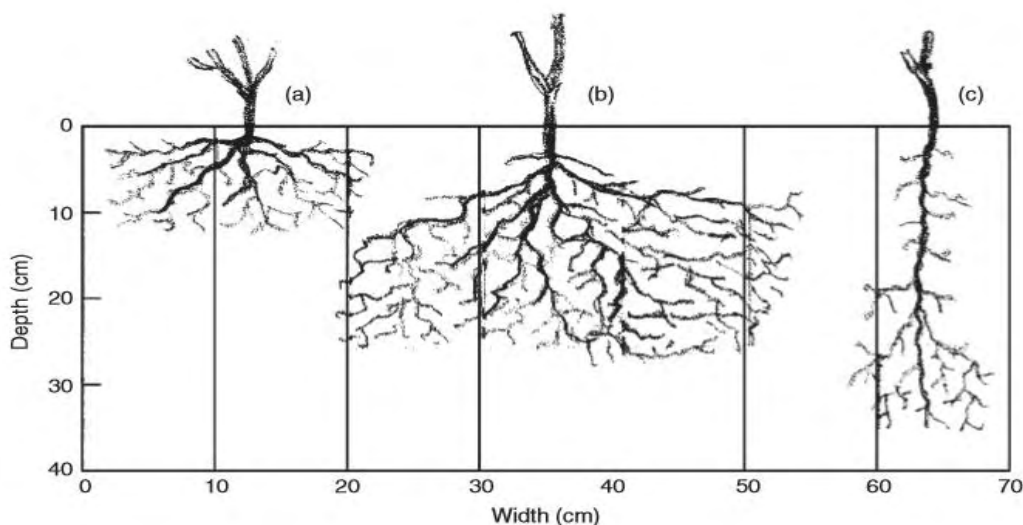
Η φακή είναι ένα λεπτό, ελαφρώς χνουδωτό, ανοιχτό πράσινο, ετήσιο ποώδες φυτό, γενικά μεταξύ 20 και 30 cm, αν και υπάρχουν ποικιλίες τόσο κοντές όσο 15 cm και τόσο ψηλές όσο 75 cm (Duke, 1981; Muehlbauer *et al.*, 1985).

#### 1.3.1 Ριζικό σύστημα

Η φακή έχει λεπτή, πασσαλώδη ρίζα από την οποία εκφύονται ινώδεις πλάγιες διακλαδώσεις (Παπακώστα, 2005). Μεγάλη γονοτυπική παραλλακτικότητα έχει αναφερθεί στην ανάπτυξη των ριζών ως προς το μήκος της κεντρικής ρίζας, τον αριθμό των πλευρικών ριζών, το συνολικό μήκος και βάρος των ριζών (Sarker *et al.*, 2005) και τον αριθμό των τριχιδίων ανά μονάδα επιφάνειας της ρίζας αλλά και τον ρυθμό αύξησης της ρίζας (Gahoonia *et al.*, 2005). Τα χαρακτηριστικά της ρίζας είναι σημαντικά για την πρόσληψη του νερού και των θρεπτικών στοιχείων, ειδικά σε φτωχά εδάφη ή σε εδάφη που νεροκρατούν. Οι Gahoonia κ.ά. (2005) βρήκαν θετική συσχέτιση του όγκου του ριζικού συστήματος με την απόδοση, με το οποίο συμφωνούν οι Sarker κ.ά. (2005).

Με βάση το βάθος και τις πλάγιες διακλαδώσεις, διακρίνονται τρεις τύποι ριζικού συστήματος: 1) πλούσια διακλαδιζόμενο, επιφανειακό, το οποίο φτάνει σε βάθος έως 15 cm, 2) περιορισμένα διακλαδιζόμενη κύρια, πασσαλώδη ρίζα, η οποία εισχωρεί σε βάθος μέχρι 36 cm και (γ) ενδιάμεσος τύπος. Το βάθος, στο οποίο εισχωρεί το ριζικό

σύστημα, εξαρτάται από τη μηχανική σύσταση και την υγρασία του εδάφους (Παπακώστα, 2005).



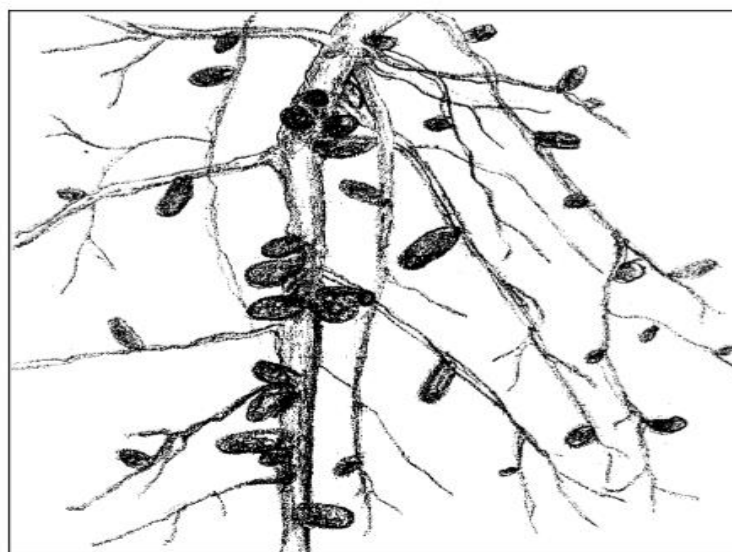
**Εικόνα 2:** Ριζικό σύστημα φακής: (a) ρηχό, (b) ενδιάμεσο, και (c) βαθύ (πηγή: Nezamuddin, 1970)

Όταν τα φυτά αναπτύσσονται σε έδαφος που φέρει τα κατάλληλα στελέχη του γένους *Rhizobium*, στην κύρια ρίζα και στις πλάγιες διακλαδώσεις, κυρίως στο ανώτερο στρώμα του εδάφους, σχηματίζεται σημαντικός αριθμός φυματίων. Τα φυμάτια είναι συνεχούς ανάπτυξης και το σχήμα τους μπορεί να είναι επίμηκες, ωοειδές ή σφαιρικό. Τα περισσότερα οζίδια όμως καθίστανται επιμήκη λόγω της ύπαρξης ενός κορυφαίου μεριστώματος, ενώ αρκετά, ιδιαίτερα εκείνα που βρίσκονται στη κεντρική ρίζα, γίνονται πολύλοβα ως αποτέλεσμα της διακλάδωσης του κορυφαίου μεριστώματος.

Τα φυμάτια αρχίζουν να εμφανίζονται 15 ημέρες μετά το φύτευμα. Η μέγιστη αύξησή τους, σε αριθμό και μάζα, επιτυγχάνεται όταν το φυτό φθάσει στο μέγιστο της βλαστικής ανάπτυξης και ξεκινά να μειώνεται με την έναρξη της άνθησης, αν και μπορεί να καθυστερήσει σε συνθήκες υψηλής εδαφικής υγρασίας, λόγω βροχής ή υπερβολικής άρδευσης.

Ενεργά φυμάτια, που αζωτοδεσμεύουν, έχουν εξωτερικά απαλό ροζ χρωματισμό και εσωτερικά κόκκινο, που οφείλεται στην λεγκαιμογλοβίνη (Saxena, 2009). Αυτή είναι πρωτεΐνη που μεταφέρει χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου στα βακτηριοειδή (κύτταρα που έχουν την ικανότητα να ανάγουν το ατμοσφαιρικό άζωτο σε αμμωνιακά ιόντα). Το

οξυγόνο είναι απαραίτητο για τη δράση στις νιτρογενάσεις, η οποία καταλύει τη βιολογική δέσμευση του αζώτου



**Εικόνα 3:** Η κεντρική ρίζα και οι δευτερεύοντες που παρουσιάζουν επιμήκη φυμάτια

### **1.3.2 Βλαστοί και Φύλλα**

Το υπέργειο τμήμα του φυτού αποτελείται από τον κύριο βλαστό και από πρώτης και δεύτερης τάξης διακλαδώσεις. Οι βλαστοί είναι λεπτοί και έχουν γωνιώδη περιφέρεια με ραβδώσεις στις γωνίες και γενικά ποώδεις και αδύναμοι, ιδιαίτερα στο πρώιμο βλαστικό στάδιο, αλλά σε αρκετούς γονότυπους ενισχύονται με την πρόοδο στην ηλικία.

Το βασικό τμήμα του στελέχους καθίσταται ξυλώδες και λιγνιτοποιείται καθώς προχωράει η ανάπτυξη των φυτών.

Ανάλογα, με τον τρόπο έκπτυξης των βλαστών, οι διάφορες ποικιλίες μπορεί να έχουν όρθια ή έρπουσα ανάπτυξη, με όλες τις ενδιάμεσες μορφές. Τα στελέχη, ανάλογα με την ποικιλία, φέρουν τρίχες ή είναι σχεδόν λεία. Οι μίσχοι έχουν γενικά ανοιχτό πράσινο χρώμα αλλά σε διάφορους γονότυπους μπορεί να έχουν ποικίλους χρωματισμούς χρωστικής ανθοκυανίνης, που εκτείνονται είτε σε ορισμένα τμήματα είτε στο σύνολο των στελεχών, ενώ σε άλλους μπορεί εκλείπει τελείως.

Τα φύλλα είναι σύνθετα, πτεροσχιδή, με 1-8 ζεύγη έμμισχων ή άμισχων, ωοειδών, ελλειπτικών ή λογχοειδών φυλλαρίων. Κάθε φύλλο στη βάση του έχει δύο μικρά,

επιμήκη παράφυλλα. Τα φυλλάρια είναι ακέραια, έχουν σχήμα ωοειδές ή ελλειπτικό και το μήκος τους ποικίλλει από 1-3 cm (Παπακώστα, 2005). Σε πολλούς γονοτύπους, τα φύλλα καταλήγουν σε έλικα, η οποία είναι απλή ή διπλή.

Ο αριθμός των φυλλαρίων εξαρτάται από τον γονότυπο, αλλά ποικίλλει και μέσα στον ίδιο τον γονότυπο αναφορικά με τη θέση του φύλλου επάνω στο φυτό που μπορεί να φθάσει τα 7-8 ζεύγη.

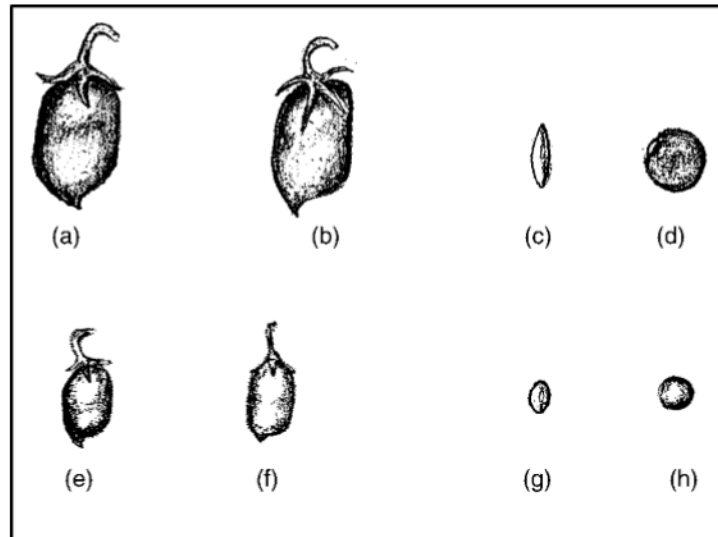
Το χρώμα των φύλλων μπορεί να είναι κιτρινοπράσινο, ανοικτό κίτρινο-πράσινο, θαμπό πράσινο, σκούρο πράσινο ή σκούρο κυανοπράσινο.

### **1.3.3 Άνθη, λοβοί, σπόροι**

Τα άνθη φέρονται μεμονωμένα ή σε ομάδες των 2-3 ανθέων και σπανιότερα των 4 σε μασχαλιαίους βότρες, αν και σε ελεγχόμενες συνθήκες αναφέρονται μέχρι και 7 άνθη (Muehlbauer *et al.*, 1995) στην άκρη του ποδίσκου, ο οποίος εκφύεται από τις μασχάλες των ανώτερων φύλλων του φυτού. Τα άνθη είναι μικρά, με μήκος 4-8 mm και χρώμα ελαφρώς ροδόχρουν ή ροδόχρουν-μπλε.

Η άνθηση μπορεί να διαρκέσει λιγότερο από 10 ημέρες ή να υπερβεί τις 40, ανάλογα με το γονότυπο και τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες (Saxena, 2009).

Οι λοβοί είναι λείοι, μικροί, πεπλατυσμένοι, με διαστάσεις 6-20 mm μήκος και 3,5-11 mm πλάτος. Κάθε λοβός περιέχει έναν, δύο και σπανιότερα τρεις σπόρους, διατεταγμένους γραμμικά (Saxena, 2009). Οι σπόροι έχουν σχήμα αμφίκυρτου φακού και είναι λιγότερο ή περισσότερο πεπλατυσμένοι, με βάρος από 20 έως 80 mg και διάμετρο από 2 έως 9 mm. Ανάλογα με την ποικιλία, το περισπέρμιο έχει ποικίλα χρώματα και η επιφάνεια των σπόρων είναι συνήθως λεία, αλλά σε μερικές μεγαλόκαρπες ποικιλίες μπορεί να είναι ρυτιδωμένη (Παπακώστα, 2005). Πιο συγκεκριμένα, με βάση το μέγεθος του σπόρου, το καλλιεργούμενο είδος διαιρείται σε δύο υποείδη, τις μικρόσπερμες (διάμετρος σπόρου 2-6 mm) και τις μεγαλόσπερμες φακές (διάμετρος σπόρου 6-9 mm). Στη χώρα μας, αναφέρεται και μία ενδιάμεση κατηγορία (μεσόσπερμες) (Ηλιάδης, 1992β).



**Εικόνα 4:** Η ποικιλομορφία των λοβών και των σπόρων της φακής. Στην πάνω γραμμή, μακρόσπερμος τύπος φακής (a και b), (c) πλαινή όψη και (d) μπροστινή όψη του σπόρου. Στην κάτω σειρά, μικρόσπερμος τύπος φακής: (e και f) λοβοί, (g) πλαινή όψη και (h) μπροστινή όψη του σπόρου

Το βάρος χιλίων σπόρων (ΒΧΣ) κυμαίνεται από 10,7 g έως 85,5 g και εξαρτάται από τον γονότυπο. Για τις μικρόσπερμες ποικιλίες, το ΒΧΣ είναι από 11 g έως 40 g, ενώ για τις μεγαλόσπερμες από 40 g έως 82 g. Επίσης, υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στο μέγεθος του σπόρου μεταξύ των ποικιλιών με διαφορετικό χρώμα κοτυληδόνων. Ποικιλίες με κίτρινες κοτυληδόνες έχουν ΒΧΣ από 17 g έως 74 g, ενώ αυτές με πορτοκαλί-κόκκινες κοτυληδόνες από 13 έως 52 g.

#### 1.4 Αύξηση και Ανάπτυξη

Η φακή είναι αυτογονιμοποιούμενο είδος, με φυσική σταυρογονιμοποίηση που κυμαίνεται από 0 έως 1% (Muehlbauer, 1985). Παρουσιάζει υπόγειο φύτευμα και είναι φυτό συνεχούς ανάπτυξης.

Η περιγραφή των βλαστικών σταδίων ανάπτυξής της επιτυγχάνεται με καταμέτρηση των κόμβων (γονάτων) του κύριου βλαστού, μέχρι το σημείο που συναντάται η διακλάδωση πρώτης τάξης και συνεχίζεται μέχρι το ανώτερο ανεπτυγμένο φύλλο

Τα βλαστικά στάδια, όπως αυτά καταγράφηκαν από τους Erskine *et al.*, (1990), συμβολίζονται ως εξής:

VE - εμφάνιση του φυταρίου, το γόνατο των κοτυληδόνων ορίζεται ως μηδέν

V1 - το πρώτο απλό φύλλο έχει δημιουργηθεί στο πρώτο γόνατο

V2 - το δεύτερο απλό φύλλο έχει δημιουργηθεί στο δεύτερο γόνατο



V3 - το πρώτο σύνθετο φύλλο έχει δημιουργηθεί στο τρίτο γόνατο

V4 - το δεύτερο σύνθετο φύλλο έχει δημιουργηθεί στο τέταρτο γόνατο Vn - το νιοστό σύνθετο φύλλο έχει δημιουργηθεί στο νιοστό γόνατο.

Η άνθηση αρχίζει από τη βάση και σταδιακά καταλήγει στην κορυφή του φυτού, ενώ συνεχίζεται η βλαστική ανάπτυξη (Saxena and Hawtin, 1981; Παπακώστα, 2005). Το φυτό μπορεί να έχει ταυτόχρονα άνθη στα ανώτερα γόνατα και γεμάτους λοβούς στα κατώτερα. Τα αναπαραγωγικά στάδια, όπως καταγράφηκαν από τους Erskine *et al.*, (1990) συμβολίζονται ως εξής:

R1 - έναρξη άνθησης, ένα ανοιχτό άνθος σε κάθε γόνατο

R2 - πλήρης άνθηση, άνθη που ανοίγουν ή έχουν ανοίξει στα γόνατα 10-13 της διακλάδωσης πρώτης τάξης

R3 - αρχή σχηματισμού των λοβών, ορατοί λοβοί στα γόνατα 10-13 της διακλάδωσης πρώτης τάξης

R4 - οι λοβοί στα γόνατα 10-13 έχουν φτάσει στο τελικό μήκος τους και είναι σε μεγάλο βαθμό επίπεδοι

R5 - έναρξη σχηματισμού των σπόρων, οι σπόροι σε κάθε λοβό στα γόνατα 10-13 της διακλάδωσης πρώτης τάξης αρχίζουν να γεμίζουν R6 - πλήρες γέμισμα λοβών, όλοι οι λοβοί στα γόνατα 10-13 της διακλάδωσης πρώτης τάξης έχουν γεμίσει R7 - φυσιολογική ωρίμανση, τα φύλλα και το 50% των λοβών αρχίζουν να κιτρινίζουν R8 - πλήρης ωρίμανση, το 90% των φύλλων και των λοβών έχουν χρώμα κίτρινο – καφέ

Όταν η σπορά γίνει κάτω από άριστες συνθήκες, όπως αυτές που επικρατούν στα τέλη του χειμώνα και νωρίς την άνοιξη στην περιοχή της Μεσογείου, της δυτικής Ασίας και της βόρειας Αφρικής, τα φυτά αναπτύσσονται γρήγορα, βλαστικά και αναπαραγωγικά και επιτυγχάνεται η ωρίμανση σε 75-100 ημέρες μετά τη σπορά.

Ωστόσο, στις περισσότερες χώρες καλλιέργειας της φακής, η ανάπτυξη των φυτών είναι μάλλον βραδεία, κατά το αρχικό βλαστικό στάδιο, λόγω των μη ευνοϊκών θερμοκρασιών και αποκτά δυναμική την άνοιξη, όταν οι θερμοκρασίες αυξάνουν. Έτσι, σε χειμερινή σπορά, η ωρίμανση επιτυγχάνεται έπειτα από 120-160 ημέρες μετά τη σπορά και σε ορισμένα περιβάλλοντα, φτάνει τις 180 ΗΜΣ (Saxena, 2006).

Το 50% περίπου της βιομάζας συσσωρεύεται μετά την άνθηση, γεγονός που υποδηλώνει ότι η θερμοκρασία και η εδαφική υγρασία επηρεάζουν την απόδοση. Οι Erskine *et al.*, (1993) ανέφεραν ότι τα στάδια του φυτρώματος και της ανθοφορίας είναι πιο ευαίσθητα στη διαθεσιμότητα του νερού και στην υδατική καταπόνηση, άποψη με την οποία συμφωνούν οι Salehi *et al.*, (2006). Στο στάδιο της ωρίμανσης των λοβών, όταν οι θερμοκρασίες υπερβούν τους 30°C, τα φυτά ωριμάζουν σε 3-5 ημέρες με αποτέλεσμα να μην γεμίζουν καλά οι σπόροι και να μειώνεται η απόδοση. Οι παρατεταμένες υψηλές θερμοκρασίες (30-32 °C) μπορεί να προκαλέσουν ανθόρροια και κακό γέμισμα των λοβών.

### 1.5 Οικολογία

Η φακή είναι μεταξύ των κύριων ψυχανθών ψυχρής εποχής (Joseph P. *et al.*, 2014). Είναι ένα από τα λιγότερο επιλεκτικά όσπρια όσον αφορά το κλίμα και τα χαρακτηριστικά του εδάφους (Cokkizgin A., Mumqez JY, 2013; IBC, 2007). Συνήθως είναι καλά προσαρμοσμένο σε διάφορους τύπους εδάφους που κυμαίνονται από άμμο έως πηλό αργίλου όταν υπάρχει καλή εσωτερική αποστράγγιση (Ozdemir 2002; Joseph P. *et al.*, 2014). Εμφανίζεται πολύ ευαίσθητη σε συνθήκες πλημμύρας και ακόμη και σύντομη περίοδος έκθεσης μπορεί να προκαλέσει την εύκολη θανάτωση της σοδειάς (Brennan L., 2002). Ευδοκimeί καλύτερα σε βαθιά, αμμώδη εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε φώσφορο και κάλιο.

Η φακή θεωρείται ως ανθεκτική στην ξηρασία καλλιέργεια που μπορεί να ανεχθεί χαμηλή ετήσια κατανομή βροχοπτώσεων ακόμη και στο εύρος των 280-300 mm (Brennan L., 2002). Όσον αφορά τη θερμοκρασία, η φακή μπορεί να αναπτυχθεί σε διαφορετικά περιβάλλοντα από δροσερή, εύκρατη στέπα έως υποτροπικές ξηρές ζώνες (McVicar R. *et al.*, 2010). Διαφορετικοί τύποι φακής αναπτύσσονται τώρα σε μεγάλες περιοχές του θερμού εύκρατου, του υποτροπικού και του μεγάλου υψομέτρου των τροπικών περιοχών ως καλλιέργεια ψυχρής εποχής (Winch T., 2006). Η φακή είναι ικανή να βλαστήσει σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από το σημείο πήξης αλλά βέλτιστη βλάστηση παρουσιάζεται στο εύρος των 18-21 ° C. Οι θερμοκρασίες που υπερβαίνουν τους 27 ° C μπορεί να βλάψουν την καλλιέργεια πολύ σοβαρά αλλά βέλτιστες θερμοκρασίες για την ανάπτυξη και τις αποδόσεις της φακής είναι περίπου οι 24 ° C. Εδαφικό pH της τάξης του 6-8 είναι ευνοϊκό για την παραγωγή φακής, αλλά μπορεί επίσης να ανεχθεί και μια μέτρια αλκαλικότητα (Mulugeta F, 2009).

Η εποχή σποράς της φακής ποικίλλει και καθορίζεται από την ποσότητα και τη κατανομή της βροχόπτωσης, τη θερμοκρασία, την τοπογραφία και το υψόμετρο της περιοχής (Regassa S. *et al.*, 2006).

Όλες οι ποικιλίες της φακής και ιδιαίτερα οι μικρόκαρπες, παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην ξηρασία, μέσω αποφυγής, λόγω της πρωιμότητάς τους.

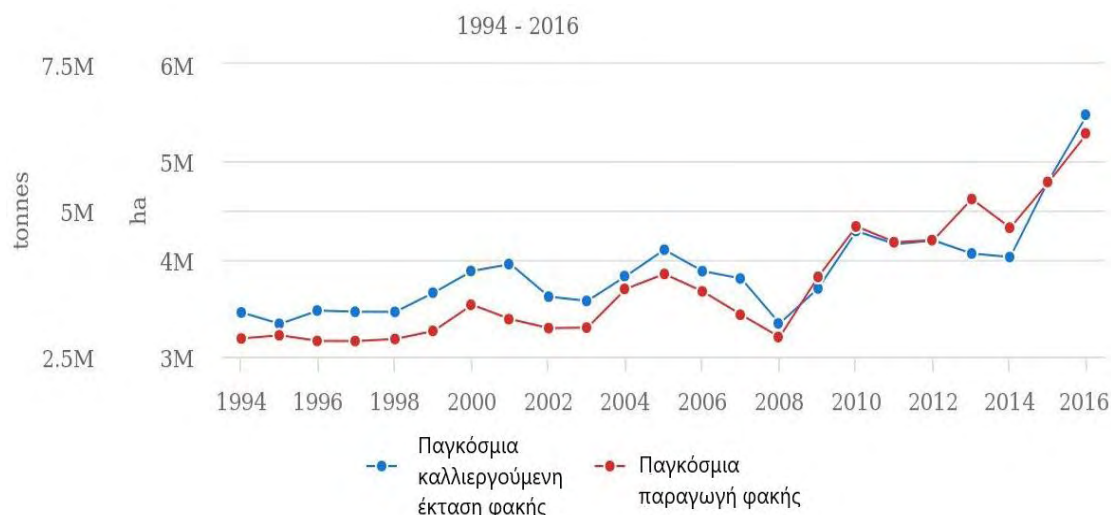
Ανέχεται μέτρια αλκαλικότητα. Η ανοχή στην αλατότητα είναι υψηλότερη κατά τη διάρκεια της βλάστησης παρά κατά τη διάρκεια της μεταγενέστερης ανάπτυξης. Σε αλατότητα 20,0 mmhos / cm, οι αποδόσεις σπόρων μειώνονται κατά 50%. Οι μελέτες θερμοκηπίου δείχνουν ότι η ανοχή στα 3,9 mmhos είναι πιο ρεαλιστική.

Οι φακές είναι ποσοτικά φυτά μεγάλης ημέρας, ενώ μερικές ποικιλίες τείνουν να είναι ουδέτερης ημέρας. Η φακή αναφέρεται ότι απαιτεί περιβάλλοντα που κυμαίνονται από δροσερή, εύκρατη στέπα μέχρι υγρά ως υποτροπικά ξηρά έως υγρής ζώνης δάση. Αντέχει ετήσια κατακρήμνιση 2,8-24,3 dm, ετήσια μέση θερμοκρασία 6,3-27,3 ° C και pH 4,5-8,2 "(Kay, 1979, Duke, 1981)

Υψηλή υγρασία με υπερβολική βροχόπτωση κατά την ανάπτυξης προάγει τη βλαστική ανάπτυξη, η οποία εμποδίζει την καλή απόδοση και ποιότητα των σπόρων.

## **1.6 Παραγωγή και αποδόσεις- Ελλάδα και παγκοσμίως**

Η καλλιέργεια της φακής έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω του ενδιαφέροντος των καταναλωτών για τη θρεπτική της ποιότητα, ενώ η φακή ως όσπριο θεωρείται σημαντικός παράγοντας στα συστήματα αμειψισποράς με σιτηρά (Muehlbauer *et al.*, 2002) και τα προγράμματα μείωσης N.



Διάγραμμα 1: Παγκόσμια καλλιεργούμενη έκταση φακής και παγκόσμια παραγωγή Πηγή: FAOSTAT, 2016

Οι σημαντικές χώρες του κόσμου που καλλιεργούν φακές είναι ο Καναδάς η Ινδία, η Τουρκία, το Μπαγκλαντές, το Ιράν, η Κίνα, το Νεπάλ και η Συρία (Ahlawat, 2012). Ο μεγαλύτερος όγκος παραγωγής προέρχεται από τον Καναδά και την Ινδία. Η συνολική καλλιεργούμενη έκταση σε παγκόσμιο επίπεδο είναι περίπου 4,6 εκατομμύρια εκτάρια, με συνολική παραγωγή σπόρου που αγγίζει τα 4,2 εκατομμύρια τόνους και μέση παραγωγή 1095 κιλών / εκτάριο (FAO, 2010).

Αρκετοί παράγοντες επηρεάζουν την απόδοση της φακής, περιλαμβανομένου του τοπικού κλίματος, των εδαφολογικών συνθηκών και των γενετικών χαρακτηριστικών. Η μέση απόδοση παραγωγής φακής παγκοσμίως για το 2016 ήταν 11,523 Kg/ha και στην Ελλάδα 11,590 Kg/ha (FAO, 2016).

Η συνολική καλλιεργήσιμη έκταση παγκοσμίως υπολογίζεται γύρω στα 5,48 εκατομμύρια εκτάρια με ετήσια παραγωγή 6,31 εκατομμύρια τόνους. Στην Ελλάδα, η καλλιεργήσιμη έκταση υπολογίζεται γύρω στα 4.137 εκτάρια με ετήσια παραγωγή 4.137 Τόνους (FAO, 2016).

Ο Καναδάς είναι η κύρια εξαγωγική χώρα με την περιοχή Saskatchewan να είναι η σημαντικότερη περιοχή παραγωγής στον Καναδά (99% της καναδικής φακής), ενώ η Ινδία είναι η κύρια χώρα κατανάλωσης (Bedard *et al.*, 2010).

Ο Καναδάς είναι η πρώτη χώρα σε παραγωγή με 3.233.800 τόνους το 2016, δεύτερη η Ινδία με 1.055.536 τόνους και τρίτη η Τουρκία με 365000 τόνους. Η Ελλάδα κατέχει

την 21η θέση με 4.137 τόνους. Τα τελευταία χρόνια η παραγωγή της φακής στην Ελλάδα σημειώνει μια πτωτική τάση.

## 1.7 .ΑΖΩΤΟΔΕΣΜΕΥΣΗ

### 1.7.1 Εισαγωγικά

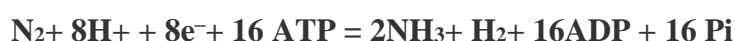
Το άζωτο, μετά το υδρογόνο, τον άνθρακα και το οξυγόνο, είναι το θρεπτικό στοιχείο που απαιτείται στις μεγαλύτερες ποσότητες για την κανονική διατροφή των φυτών (Δροσόπουλος, 1998). Αν και η ατμόσφαιρα της γης είναι 80% δι-νιτρικό ( $N_2$ ) αέριο, η διαθεσιμότητα του αζώτου συχνά περιορίζει τη γεωργική παραγωγή, καθώς αυτή η μορφή του δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τα φυτά. Τα φυτά απαιτούν το άζωτο τους σε σταθερή μορφή (π.χ., αμμωνία, νιτρικά ή οργανικές ενώσεις) κυρίως για χρήση στη σύνθεση πρωτεϊνών και νουκλεϊνικών οξέων. Έτσι, το ατμοσφαιρικό άζωτο χρειάζεται να αναχθεί. Η διαδικασία αναγωγής του ατμοσφαιρικού  $N_2$  ονομάζεται αζωτοδέσμευση, και μπορεί να πραγματοποιηθεί με βιολογικές, φυσικές αλλά και ανθρωπογενείς διεργασίες (Hubbell και Kidder, 2003, Δροσόπουλος, 1992).

Στις ανθρωπογενείς διεργασίες, περιλαμβάνεται η μετατροπή του μοριακού αζώτου σε αφομοιώσιμες μορφές ( $NH_3$ ,  $NO_3^-$ ,  $CN_2^{--}$ ) και ο εμπλουτισμός του εδάφους με αυτές, με τη μορφή χημικών λιπασμάτων (Δροσόπουλος, 1992). Στις φυσικές διεργασίες, περιλαμβάνεται η αφομοίωση του μοριακού αζώτου μέσω οξειδίων του ( $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ) που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια ατμοσφαιρικών ηλεκτρικών εκκενώσεων, τα οποία στη συνέχεια φτάνουν στο έδαφος με τη βοήθεια των ατμοσφαιρικών κατακρημνισμάτων (Δροσόπουλος, 1992). Η συνεισφορά όμως των παραπάνω διεργασιών είναι πολύ μικρή για να στηρίξει τις ανάγκες των οικοσυστημάτων σε αφομοιώσιμο άζωτο. Αυτός ο περιορισμός του σταθερού αζώτου στην παγκόσμια παραγωγικότητα είναι πιθανό να αυξηθεί με την αυξανόμενη παγκόσμια ζήτηση για τρόφιμα (Yadav *et al.*, 2007).

Η βιολογική δέσμευση (Biological Nitrogen Fixation, BNF) εξαρτάται από τη βακτηριακή ενζυματική αναγωγή του  $N_2$  μέσω του ενζυμικού συστήματος της νιτρογενάσης. Αυτή η αναγωγή μπορεί να συμβεί μέσω των ενεργειών της ελεύθερης διαβίωσης, των συνθετικών ή συμβιωτικών βακτηριδίων. (Yadav *et al.*, 2007). Η σημαντικότερη κατηγορία αζωτοδεσμευτικών μικροοργανισμών είναι αυτή που

δημιουργεί συμβιωτικές σχέσεις με τα ανώτερα φυτά (Mylona *et al.*, 1995). Στους μικροοργανισμούς αυτούς περιλαμβάνονται βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* και *Allorhizobium*, τα οποία αναφέρονται συνολικά ως ριζόβια, καθώς και στο γένος *Frankia*. Τα ριζόβια επάγουν τον σχηματισμό φυματίων σε φυτά την οικογένειας των ψυχανθών (Fabaceae ή Leguminosae).

Η βιολογική αζωτοδέσμευση μπορεί να αντιπροσωπευτεί από την ακόλουθη εξίσωση



σύμφωνα με την οποία, ένα μόριο αερίου αζώτου ( $\text{N}_2$ ) συνδυάζεται με οχτώ ιόντα υδρογόνου (γνωστά και ως πρωτόνια) ( $8\text{H}^+$ ) για να σχηματίσει δύο μόρια αμμωνίας ( $2\text{NH}_3$ ) και δύο μόρια αερίου υδρογόνου ( $2 \text{H}_2$ ). Αυτή η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο νιτρογενάση. Τα 16 μόρια ATP αντιπροσωπεύουν την ενέργεια που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί η βιολογική αζωτοδέσμευση.

Τύπος συσχέτισης	Μικροοργανισμοί	Φυτά ξενιστές
Συμβιωτική	Βακτήρια (ex. <i>Rhizobium</i> ) Ακτινομύκητες (ex. <i>Frankia</i> ) Κυανοβακτήρια (ex. <i>Anabaena azollaea</i> )	Ψυχανθή Ακτινόριζα Φτέρη
Μη συμβιωτική	Βακτήρια (ex. <i>Azotobacter</i> , <i>Azospirillum</i> )	Δημητριακά
Ελεύθερη διαβίωση	Βακτήρια (ex. <i>Thiobacillus</i> , <i>Clostridium</i> )	

Πίνακας 1: Διαφορετικοί τύποι συστημάτων αζωτοδέσμευσης

Τα φυμάτια των ριζών των οσπρίων αποτελούνται από μια συμβιωτική συσχέτιση μεταξύ των βακτηρίων και των φυτών και αποτελούν σημαντική πηγή σταθερού N για τις καλλιέργειες. Σε συνδυασμό με άλλα συστήματα καλλιεργειών (π.χ. ρύζι), αυτή η πηγή σταθερού N που προκύπτει από δραστηριότητες ανθρώπινης φυτικής παραγωγής παρέχει περίπου 40 Tg Nyr-1 που ισοδυναμεί με το ήμισυ του συνολικού N που εφαρμόζεται ετησίως ως βιομηχανικά παραγόμενα λιπάσματα (Vitousek *et al.*, 1997)

Επειδή πολλά εδάφη είναι εκ φύσεως φτωχά σε άζωτο, τα ψυχανθή με ριζικά φυμάτια έχουν στις συγκεκριμένες συνθήκες συγκριτικό πλεονέκτημα και μπορούν να αναπτυχθούν καλά σε περιοχές στις οποίες άλλα φυτά αδυνατούν (Medigan *et al.*, 2007) . Το υψηλό κόστος και οι αρνητικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις των τεχνητών αζωτούχων λιπασμάτων δίνουν στις αζωτοδεσμευτικές καλλιέργειες οσπρίων (π.χ. φακές) ακόμη ένα ανταγωνιστικό πλεονέκτημα να είναι ανεξάρτητες από το άζωτο του

εδάφους. Η τιμή των αζωτούχων λιπασμάτων έχει τριπλασιαστεί τα τελευταία χρόνια κυρίως λόγω της αύξησης της τιμής του φυσικού αερίου. Δεδομένης της δυνατότητας σταθεροποίησης του αζώτου, η καλλιέργεια της φακής προσφέρει σημαντική εξοικονόμηση στην ανάγκη χρήσης ορυκτών καυσίμων για τη δημιουργία σταθερού αζώτου για τη γεωργική παραγωγή. Μεγάλο μέρος του αζώτου που σταθεροποιείται από την καλλιέργεια της φακής είναι στη συνέχεια διαθέσιμο για διάδοχες καλλιέργειες σε συστήματα αμειψισποράς καθώς τα κατάλοιπα των καλλιεργειών διασπώνται (S.S. Yadav *et al.*, 2007). Οι εκτιμήσεις για τη συνεισφορά του N σε εδάφη από καλλιέργεια φακής είναι γενικά της τάξης των 20kg N ha<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup> (Peel, 1998). Ωστόσο, τα επίπεδα N που σταθεροποιούνται από τα όσπρια (συμπεριλαμβανομένης της φακής) ποικίλλουν σημαντικά, χωρικά και χρονικά, ως απόκριση σε πλήθος περιβαλλοντικών και οικολογικών παραγόντων (π.χ. επίπεδο εδαφικού N, νερό, P, παθογόνα κλπ. (Vitousek *et al.*, 2002). Η βιολογική δέσμευση N παρουσιάζει οικονομικά, περιβαλλοντικά και αγρονομικά οφέλη και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε μεγαλύτερο βαθμό ως εναλλακτική λύση των συνθετικών λιπασμάτων (Silva και Uchida 2000).

Το συνολικό N αζωτοδέσμευσης τείνει να είναι χαμηλότερο από ότι από άλλες καλλιέργειες ψυχανθών σε όλες τις περιπτώσεις και είναι πιθανό να αντανakλά τις γενικά χαμηλότερες συνολικές αποδόσεις βιομάζας της φακής σε σύγκριση με άλλα ψυχανθή. Σύμφωνα με έρευνα των Unkovich και Pate (2000) για τις ποσότητες του N<sub>2</sub> αζωτοδέσμευσης, διαπιστώθηκε ότι οι κύριες καλλιέργειες ψυχανθών κατατάχθηκαν με την ακόλουθη φθίνουσα σειρά: σόγια, λούπινο, μπιζέλι, κουκιά, κοινό φασόλι (*Phaseolus vulgaris*), φακές και ρεβίθι αλλά η ολική δέσμευση αζώτου θα εξακολουθεί να εξαρτάται από τις συνθήκες καλλιέργειας και τη σχετική προσαρμογή των ειδών στο τοπικό περιβάλλον δοκιμών. Είναι αξιοσημείωτο ωστόσο, ότι η αξιοπιστία των ανωτέρω ευρημάτων εξαρτάται σημαντικά από τον ελάχιστο αριθμό των πειραμάτων που συμπεριέλαβαν και το υπόγεια N αζωτοδέσμευσης στους υπολογισμούς τους. Αν και αναφέρεται συχνά, δεν μετριέται γενικά και δεν φαίνεται να υπάρχουν καλές τιμές για τη φακή στη βιβλιογραφία

Οι πιθανοί μηχανισμοί που προάγουν τις αποδόσεις των φυτών δεν περιορίζονται μόνο στη δέσμευση και παροχή του αζώτου, αλλά αποδίδονται και στην παραγωγή φυτοορμονών και βιταμινών, στην πρόκληση ανθεκτικότητας σε παθογόνα σε αυξημένη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και διαλυτοποίηση του φωσφόρου (Kennedy *et al.*, 2004).

### 1.7.2 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΑΖΩΤΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΣΤΗ ΦΑΚΗ

Η φακή δημιουργεί μια συμβίωση με το *Rhizobium leguminosarum* (Humphrey *et al.*, 2001), στην οποία τα βακτήρια περικλείονται μέσα στα οζίδια των ριζών σε μια εξειδικευμένη μορφή γνωστή ως βακτηριοειδές. Ο σχηματισμός αυτής της συμβίωσης είναι συγκεκριμένος για τον κάθε ξενιστή μέσω της αλληλεπίδρασης τόσο των φυτικών όσο και των βακτηριακών γονιδίων (Begum *et al.*, 2001, Smit κ.ά., 1992).

Η παραπάνω σχέση αποβαίνει αμοιβαία επωφελής και για τους δύο συμβιώτες, αφού του φυτού παρέχει στα ριζόβια ένα περιβάλλον πλούσιο σε πηγές φωτοσυνθετικού οργανικού άνθρακα και απαλλαγμένο από τον ανταγωνισμό άλλων μικροοργανισμών, ενώ με τη σειρά τους τα ριζόβια καλύπτουν το μεγαλύτερο μέρος των αναγκών του φυτού σε αφομοιώσιμο άζωτο (Udvardi και Poole, 2013; Udvardi και Day, 1997; White *et al.*, 2007). Το φυτό παρέχει οργανικά οξέα ως πηγή άνθρακα για τα βακτήρια και τα βακτηριοειδή εξάγουν σταθεροποιημένο N με τη μορφή αμμωνίας. Τα οζίδια της φακής τροποποιούν έπειτα την αμμωνία για να εξάγουν αμίδια στα επίγεια τμήματα του φυτού μέσα στο ξύλωμα (Chopra *et al.*, 2002). Τόσο τα ριζόβια όσο και το ίδιο το φυτό απαιτείται να κάνουν διαφοροποιήσεις στο μεταβολισμό τους κατά τη διαδικασία δημιουργίας των φυματίων (Kahn *et al.*, 1998).

Η σύνθετη δομή των οζιδίων υπάρχει για να καταστεί δυνατή η λειτουργία των ενζύμων της νιτρογενάσης, τα οποία είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στο οξυγόνο, και των ριζόβιων τα οποία είναι υποχρεωτικά αερόβια. Συγκεκριμένα, η νιτρογενάση απαιτεί ένα αυστηρά αερόβιο περιβάλλον για να δράσει και κατά συνέπεια, οι αερόβιοι αζωτοδεσμευτικοί οργανισμοί, όπως είναι τα ριζόβια, πρέπει να προστατεύουν την νιτρογενάση του από το οξυγόνο (Hill, 1992). Στα οζίδια, το εσωτερικό οξυγόνο ρυθμίζεται στα 3-30 nm και η διάχυση του οξυγόνου διευκολύνεται μέσω των διακυτταρικών αέριων χώρων και της αιμοπρωτεΐνης που δεσμεύει το οξυγόνο, της λεγκαιμογλοβίνης. Η λεγκαιμογλοβίνη είναι μια αιμο-πρωτεΐνη (δηλαδή περιέχει ως προσθετική ομάδα την αίμη και συνεπώς έχει κόκκινο χρώμα), που δομικά και λειτουργικά μοιάζει με την αιμογλοβίνη και τη μυογλοβίνη των θηλαστικών (Διαμαντίδης, 1994).



### 1.7.3 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΦΥΜΑΤΙΩΝ ΣΤΗ ΦΑΚΗ (ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ)

Στη συμβίωση ψυχανθών και αζωτοβακτηρίων, το φυτό-ξενιστής εφοδιάζει το βακτήριο με ενέργεια (ATP, NADPH) και το τελευταίο, σε αντάλλαγμα εξασφαλίζει στον ξενιστή άζωτο από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Σήμερα είναι ευρέως γνωστό ο, τι υπάρχουν γενετικοί ή χημικοί παράγοντες στα κυτταρικά τοιχώματα των ριζών των ψυχανθών, ή των βακτηρίων ή και στα δύο που καθορίζουν τη συγγένεια ανάμεσα στο ψυχανθές και το είδος ή τη φυλή του βακτηρίου.

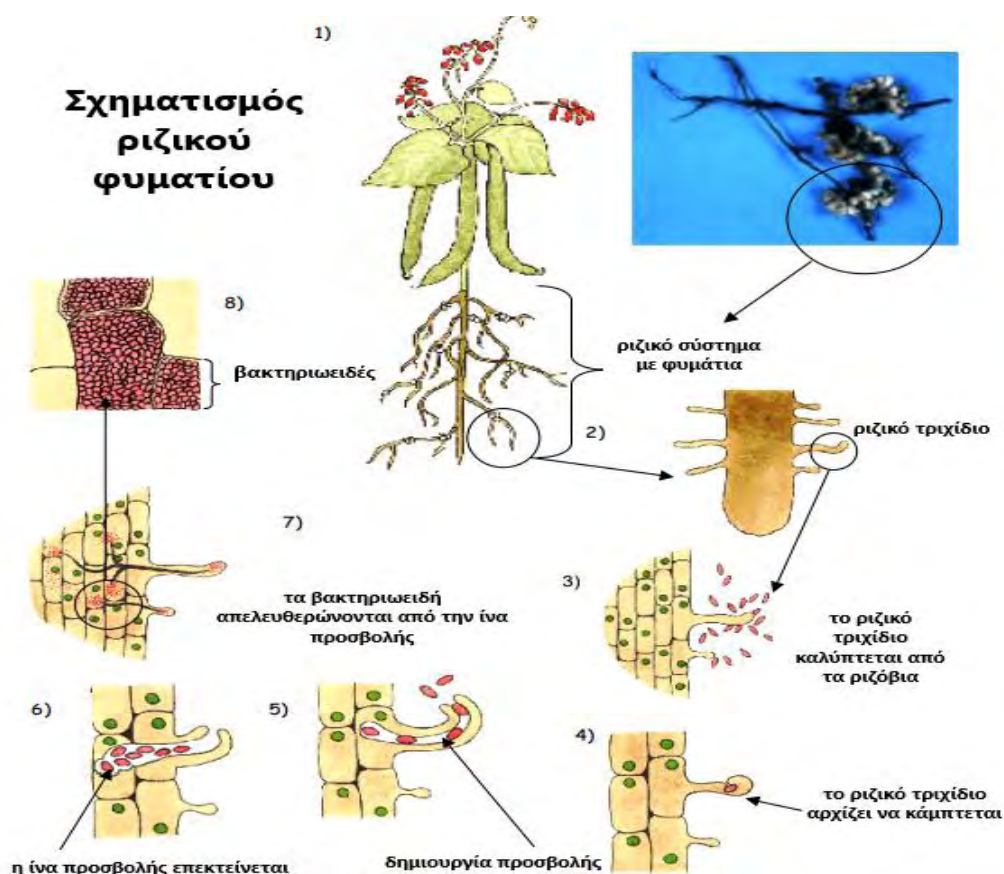
Σύνολα γονιδίων στα βακτήρια ελέγχουν διάφορες πτυχές της διαδικασίας δημιουργίας φυματίων. Ένα στέλεχος *Rhizobium* μπορεί να μολύνει συγκεκριμένα είδη ψυχανθών αλλά όχι κάποια άλλα. Τα γονίδια εξειδίκευσης καθορίζουν την αλληλεπίδραση μεταξύ των στελεχών *Rhizobium* και των ψυχανθών. Ακόμη και αν ένα στέλεχος είναι ικανό να μολύνει ένα ψυχανθές, τα φυμάτια που δημιουργούνται μπορεί να μην είναι ικανά να δεσμεύσουν άζωτο. Τέτοια ριζόβια ονομάζονται αναποτελεσματικά. Τα αποτελεσματικά στελέχη διεγείρουν τα φυμάτια που δεσμεύουν άζωτο. Η ικανότητα αζωτοδέσμευσης καθορίζεται από μία πρόσθετη βακτηριακή ομάδα γονιδίων σ. Τα γονίδια **nod** κατευθύνουν τα διάφορα στάδια σχηματισμού φυματίων.

Η αρχική αλληλεπίδραση μεταξύ του φυτού ξενιστή και του ελεύθερης διαβίωσης ριζόβιου είναι η απελευθέρωση μιας πληθώρας χημικών ουσιών από τα ριζικά κύτταρα στο έδαφος. Μερικά από αυτά, ενθαρρύνουν την ανάπτυξη του πληθυσμού των βακτηρίων στην περιοχή γύρω από τις ρίζες (τη ριζόσφαιρα). Οι αντιδράσεις μεταξύ ορισμένων ενώσεων στο βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα και στην επιφάνεια της ρίζας είναι υπεύθυνες ώστε τα ριζόβια να αναγνωρίσουν τον κατάλληλο ξενιστή και να αποικήσουν τα ριζικά τριχίδια. Τα φλαβονοειδή που εκκρίνονται από τα ριζικά κύτταρα ενεργοποιούν τα *nod* γονίδια στα βακτήρια τα οποία στη συνέχεια προκαλούν τον σχηματισμό φυματίων. Η όλη διαδικασία δημιουργίας φυματίων ρυθμίζεται από πολύπλοκες χημικές σηματοδοτήσεις μεταξύ του φυτού και των βακτηρίων.

Μόλις συνδεθούν τα βακτήρια με τα ριζικά τριχίδια, εκκρίνουν παράγοντες *nod* (*nod* factors). Αυτοί διεγείρουν τα τριχίδια ώστε να καμφθούν σε σχήμα «άγκιστρο». Στη συνέχεια τα *Rhizobia* εισβάλλουν στη ρίζα μέσω της άκρης του τριχιδίου όπου προκαλούν τον σχηματισμό ινών προσβολής. Αυτές οι ίνες κατασκευάζονται από τα ριζικά κύτταρα και όχι από τα βακτήρια και σχηματίζεται μόνο ως απόκριση σε μόλυνση. Οι ίνες προσβολής αναπτύσσονται μέσω των κυττάρων των ριζικών

τριχιδίων και διεισδύουν σε άλλα ριζικά κύτταρα γύρω από το σημείο αυτό συχνά με διακλάδωση του νήματος. Τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται εντός του επεκτεινόμενου δικτύου σωλήνων, συνεχίζοντας να παράγουν παράγοντες nod οι οποίοι διεγείρουν τα ριζικά κύτταρα να πολλαπλασιαστούν, σχηματίζοντας τελικά ένα ριζικό φυμάτιο. Μέσα σε μια βδομάδα από τη μόλυνση μικρά φυμάτια είναι ορατά με γυμνό μάτι. Κάθε ριζικό φυμάτιο είναι γεμάτο με χιλιάδες ζωντανά βακτήρια *Rhizobium*, εκ των οποίων τα περισσότερα είναι σε παραμορφωμένη μορφή γνωστή ως βακτηριοειδές.

Τμήματα μεμβράνης φυτικών κυττάρων περιβάλλουν τα βακτηριοειδή. Αυτές οι δομές, γνωστές ως συμβιοσώματα (symbiosomes), που μπορεί να περιέχουν αρκετά βακτηριοειδή ή μόνο ένα, είναι εκεί όπου λαμβάνει χώρα η αζωτοδέσμευση.



Εικόνα 5: Σχηματισμός ριζικού φυματίου © 2002 Society for General Microbiology

#### 1.7.4 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΦΥΜΑΤΙΩΝ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΖΩΤΟΔΕΣΜΕΥΣΗ

Η ακριβής συμβολή της φακής στην υγεία του εδάφους εξαρτάται από πολλούς αβιοτικούς, βιοτικούς και καλλιεργητικούς παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθεροποίηση του αζώτου και την αποσύνθεση των ριζών φακής και των επιφανειακών υπολειμμάτων.

##### **Αβιοτικοί εδαφικοί παράγοντες**

Τα αλατούχα εδάφη αποτελούν περίπου το 19,5% της αρδευόμενης γης και το 2,1% της ξηρικής καλλιέργειας σε παγκόσμιο επίπεδο (FAO, 2000) και αποτελούν σημαντική πρόκληση για την καλλιέργεια φακής και άλλων οσπρίων. Οι Rai και Singh (1999) μελέτησαν τις επιδράσεις της καταπόνησης της αλατότητας στις φακές και τα ριζόβια και διαπίστωσαν ότι τα αλατούχα εδάφη παρεμπόδιζαν τη δημιουργία φυματίων και τις δραστηριότητες των νιτρογενασών, της συνθετάσης της γλουταμίνης και της εξαρτώμενης από NADH γλουταμινικής συνθάσης στο *R. leguminosarum*.

Οι Slattery *et al.* (2001) βρήκαν ότι η αποτελεσματικότητα της αζωτοδέσμευσης σχετιζόταν με το pH του εδάφους και την τοποθεσία.

Ο Evans (2005) διαπίστωσε επίσης ότι τα στελέχη του *R. leguminosarum* ποικίλλουν σημαντικά στην ικανότητά τους να δημιουργούν φυμάτια στις φακές, να σταθεροποιούν το N και να συμβάλλουν στην ανάπτυξη των φυτών σε όξινα εδάφη. Η υψηλή αλκαλικότητα μειώνει επίσης την δημιουργία φυματίων, την βιομάζα των φυματίων και το περιεχόμενο λεγκαιμογλοβίνης των φυματίων της φακής (Misra *et al.*, 2002).

Η ανεπάρκεια του φωσφόρου αναφέρεται συχνά ως περιοριστικός παράγοντας της σταθεροποίησης του αζώτου (Giller και Cadisch, 1995). Τα μικροθρεπτικά συστατικά του εδάφους επηρεάζουν επίσης τη συμβολή της δημιουργίας φυματίων και της σταθεροποίησης του αζώτου στην υγεία του εδάφους (Wani *et al.*, 1995).

Προσθήκες μικροθρεπτικών συστατικών (Mo, Co, B) έδειξαν ότι αυξάνουν τη βιομάζα των φυματίων της φακής, τη βιομάζα των φυτών, την περιεκτικότητα σε N, την απόδοση σε σπόρο, το μέγεθος των σπόρων και την περιεκτικότητα των σπόρων σε N και P (Yanni, 1992).

Η συγκέντρωση του εδαφικού N επηρεάζει τον σχηματισμό οξιδίων και τη σταθεροποίηση του αζώτου όλων των οσπρίων. Τα υψηλά επίπεδα εδαφικού N μειώνουν την δημιουργία φυματίων και τη σταθεροποίηση, ελαχιστοποιώντας έτσι το όφελος της συμβιωτικής σχέσης. Αυτό συμβαίνει επειδή η σταθεροποίηση του αζώτου απαιτεί σημαντική ενέργεια και θρεπτικά συστατικά, ενώ η πρόσληψη του εδαφικού N είναι μεταβολικά λιγότερο δαπανηρή για το φυτό. Έχουν διεξαχθεί έρευνες για την επιλογή γονότυπων και στελεχών ριζοβίων που μεγιστοποιούν τη σταθεροποίηση του αζώτου σε εδάφη πλούσια σε N (Giller και Cadisch, 1995; Wani *et al.*, 1995; Herridge και Rose, 2000). Ωστόσο, δεν είναι σαφές εάν αυτό θα βελτιώσει την υγεία του εδάφους και θα ωφελήσει τα συστήματα καλλιέργειας, διότι τελικά μπορεί να αυξήσει την απώλεια N από τα εδάφη μέσω της έκπλυσης και της πτητικότητας (Giller και Cadisch, 1995).

Η μέγιστη συμβολή της φακής και άλλων ψυχανθών στην υγεία του εδάφους συμβαίνει σε εδάφη φτωχά σε N. Όταν τα επίπεδα του εδάφους σε N είναι χαμηλά, η ανάπτυξη ορισμένων ειδών ψυχανθών μπορεί να ωφεληθεί από μια μικρή ποσότητα προστιθέμενου N έως ότου ξεκινήσει η δημιουργία φυματίων και η δέσμευση του αζώτου (van Kessel και Hartley, 2000). Το μεγαλύτερο όφελος της σταθεροποίησης του αζώτου πραγματοποιείται σε εδάφη φτωχά σε N που έχουν επαρκή ποσότητα P και μικροθρεπτικών συστατικών και κατάλληλα στελέχη αποτελεσματικών ριζοβίων βακτηρίων.

### **Βιοτικοί εδαφικοί παράγοντες**

Η συνεισφορά της συμβίωσης ριζόβιο-φακή στην υγεία του εδάφους επηρεάζεται από εγγενείς βιοτικούς παράγοντες, όπως ο γονότυπος του φυτού, το στέλεχος του *R. leguminosarum* bv. *viciae*, και αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο. Μελέτες έχουν δείξει σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των γονότυπων φακής στον αριθμό των οξιδίων, της βιομάζας των οξιδίων και της σταθεροποίησης του αζώτου (Bhattacharyya και Sengupta, 1984; Hafeez *et al.*, 2000), την πυκνότητα της τρίχας της ρίζας και την πρόσληψη μικροθρεπτικών συστατικών (Gahoonia *et al.*, 2006) καθώς και την ανάπτυξη και το βάρος της ρίζας (Sarker *et al.*, 2005). Οι μικρόσπερμοι γονότυποι φακής έχουν μεγαλύτερη βιομάζα οξιδίων από εκείνη των μεγάλωσπερων και ποικίλλουν στο συνολικό σταθεροποιημένο N και την πρόσληψη N από το έδαφος (Kurdali *et al.*, 1997).

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει σημαντικές διαφορές μεταξύ στελεχών του *R. leguminosarum* σε σχέση με τον αριθμό των φυματίων και τη βιομάζα, την σταθεροποίηση του αζώτου, την ποσότητα του N προερχόμενο από τη σταθεροποίηση, το συνολικό περιεχόμενο N, την απόδοση σε σπόρο και την ανάπτυξη της ρίζας (Bremer *et al.*, 1990; Hafeez *et al.*, 2000; MartinezRomero, 2003). Τα εδάφη που δεν έχουν «ρυθμιστεί» για την ανάπτυξη φακής τυπικά στερούνται αποτελεσματικών ριζόβιων στελεχών και πρέπει να εμβολιαστούν. Οι Hafeez *et al.*, (2000) διαπίστωσαν ότι ένα συγκεκριμένο στέλεχος του *R. leguminosarum* bv. *viciae* (δηλαδή Lc26) σταθεροποιεί 243% περισσότερο N από τους αυτόχθονες πληθυσμούς ριζόβιων σε εδάφη φτωχά σε N- και ριζόβια στο Πακιστάν.

Παρόλο που τα αυτόχθονα στελέχη μπορεί να μην είναι κατάλληλα για να σχηματίσουν συμβιωτικές σχέσεις με συγκεκριμένα είδη οσπρίων, συχνά εμφανίζουν μεγαλύτερη ανοχή στις δυσμενείς συνθήκες που απαντώνται στα εδάφη τους, συμπεριλαμβανομένης της ανοχής στην αλατότητα, τις υψηλότερες θερμοκρασίες και την ξηρασία και μπορεί να είναι εξαιρετικές πηγές γενετικής παραλλακτικότητας για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας στελεχών ριζόβιων που αναπτύσσονται σε υποβαθμισμένα εδάφη (Zahran, 2001).

Οι εξωγενείς βιοτικοί παράγοντες που επηρεάζουν τον σχηματισμό οζιδίων και τη δέσμευση αζώτου της φακής περιλαμβάνουν τα πολυάριθμα άλλα είδη που επηρεάζουν τα ριζόβια στο έδαφος, τη συμβίωση φυτών-ριζόβιου και το φυτό. Οι May και Bohloul (1983) εμβολίασαν φακές με διαφορετικά στελέχη ριζόβιων και διαπίστωσαν ότι η ανταγωνιστικότητα εξαρτάται από το στέλεχος ριζόβιου, τον γονότυπο της φακής και τον τύπο του εδάφους.

Οι Moawad *et al.* (1998) έδειξαν ότι εμβολιασμένες φακές δεν ήταν ικανές να ανταγωνιστούν τα ιθαγενή στελέχη ριζόβιων, σε αντίθεση με τους Shah *et al.*, (2002) που ανέφεραν ότι εμβολιασμένα στελέχη ήταν υψηλά ανταγωνιστικά με τα ιθαγενή. Η διαφορά αυτή αντανάκλα την προγενέστερη διαφορά του ιστορικού του εδάφους της καλλιέργειας.

Επειδή η δημιουργία φυματίων, η σταθεροποίηση του αζώτου και η φωτοσύνθεση συνδέονται, παράγοντες που μειώνουν την παραγωγή της φωτοσύνθεσης και τη δημιουργία φυματίων (π.χ. παρασιτικά έντομα, φυτοπαθογόνα, ζιζάνια) μπορούν να επηρεάσουν δυσμενώς την συμβίωση και τη σταθεροποίηση του αζώτου στη φακή.

Οι Weigand *et al.*, (1992) έδειξαν την επίδραση ενός εντόμου που τρέφεται με οζίδια (*Sitona crinitus*), και αναφέρουν ότι το έντομο προκαλεί σημαντική καταστροφή των φυματίων (μέχρι και 75%) καθώς και μείωση της απόδοσης.

Οι μη ριζόβιοι μικροοργανισμοί έχει αποδειχθεί ότι ενισχύουν τη συμβιωτική σχέση που συμβάλλει στην υγεία του εδάφους. Οι Chanway *et al.*, (1989) εξέτασαν την επίδραση των ριζοβακτηρίων που προάγουν την ανάπτυξη στα ψυχανθή και διαπίστωσαν ότι η φακή που εμβολιάστηκε με τα βακτήρια εμφάνισε αυξημένη ανάπτυξη, δημιουργία φυματίων και βάρους ριζών.

### **Καλλιεργητικοί παράγοντες**

Η συμβολή της δημιουργίας φυματίων και της αζωτοδέσμευσης στην υγεία και τη βιωσιμότητα του εδάφους εξαρτάται από το πώς τα ψυχανθή και τα ριζόβια χρησιμοποιούνται από τους διαχειριστές της γης. Οι ακόλουθοι παράγοντες του καλλιεργητικού συστήματος επηρεάζουν τις εισροές N στα εδάφη, καθώς και την υγρασία του εδάφους και την περιεκτικότητα σε οργανική ύλη.

### *Εμβόλια*

Η δημιουργία φυματίων και η σταθεροποίηση του αζώτου εξαρτώνται απόλυτα από την παρουσία αποτελεσματικών στελεχών ριζοβίων στο έδαφος και υπήρξαν πολυάριθμες περιπτώσεις αποτυχίας καλλιεργειών, λόγω της απουσίας συμβατών και αποτελεσματικών στελεχών. Οι Deaker *et al.*, (2004) έπειτα από μελέτη στις τεχνολογίες εμβολιασμού των σπόρων κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει ένα σαφές όφελος από τη χρήση εμπορικών εμβολίων, με αρκετές μελέτες που αναφέρουν αύξηση της απόδοσης έως και 25%. Οι Bremer *et al.*, (1990) σύγκριναν 14 στελέχη του *R. leguminosarum* bv. *viciae* με δύο γονότυπους φακής σε τρεις τοποθεσίες στον Καναδά και διαπίστωσαν ότι ο εμβολιασμός αύξησε τις αποδόσεις σε σπόρο έως και 27-166% έναντι των μη εμβολιασμένων μαρτύρων.

### *Οργωμα*

Η υγεία των εδαφών μπορεί να αυξηθεί σημαντικά υιοθετώντας συντηρητικές μεθόδους καλλιέργειας για τη φύτευση, συμπεριλαμβανομένου του ελάχιστου οργώματος ή και της απουσίας οργώματος.

Τα όσπρια είναι σημαντικά συστατικά των συστημάτων στα οποία δεν γίνεται όργωμα, επειδή παρέχουν μια φθινή πηγή εδαφικού N για τις επόμενες καλλιέργειες, χρησιμοποιούν λιγότερο εδαφικό νερό από ό, τι οι άλλες καλλιέργειες και χρησιμεύουν στη διάσπαση του κύκλου ζωής των παρασίτων των καλλιεργειών, γεγονός που μπορεί να αποτελέσει πρόβλημα σε συστήματα χωρίς όργωμα και σε συνεχή καλλιέργεια σιτηρών. Οι μέθοδοι μειωμένου και ελάχιστου οργώματος μειώνουν τα ποσοστά ανοργανοποίησης και νιτροποίησης και αυξάνουν την ακινητοποίηση του N (van Kessel και Hartley, 2000). Αυτό οδηγεί σε μείωση του διαθέσιμου N, η οποία διεγείρει την αζωτοδέσμευση των οσπρίων που καλλιεργούνται σε εδάφη χωρίς κατεργασία.

Σύμφωνα με τους Kessel και Hartley (2000), ο σχηματισμός αζώτου αυξήθηκε κατά 10% στην φακή μετά από 4 έτη χωρίς όργωμα σε ημι-άνυδρο περιβάλλον.

#### *Συγκαλλιέργεια*

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει αυξημένες αποδόσεις, όσο αναφορά τις ισοδύναμες εκτάσεις γης συγκαλλιέργειας μη-οσπρίων με όσπρια, όπως ρεβίθια, μπιζέλια και φακές (van Kessel και Hartley, 2000). Οι Gunes *et al.*, (2007) μελέτησαν την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών και τις αποδόσεις της συγκαλλιέργειας σιταριού και ρεβιθιού και διαπίστωσαν ότι η μέση περιεκτικότητα σε N των σπόρων σιταριού και ρεβιθιού ήταν αντίστοιχα 11,2 και 10,2% μεγαλύτερη κατά τη συγκαλλιέργεια συγκριτικά με τις αντίστοιχες μονοκαλλιέργειες.

#### *Πράσινη κοπριά*

Οι φακές και άλλα όσπρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο ως πράσινη κοπριά όσο και ως καλλιέργειες κάλυψης. Όταν χρησιμοποιείται ως πράσινη κοπριά, η φακή ενσωματώνεται στο έδαφος πριν από τη μεταφορά του σταθερού N στους σπόρους για να μεγιστοποιηθεί η ποσότητα N που προστίθεται στο χώμα.

Οι εισροές αζώτου της πράσινης κοπριάς κυμαίνονται από 45-224 kg N / εκτάριο και η ποσότητα N που διατίθεται στις επόμενες καλλιέργειες κυμαίνεται από 40 έως 60% του N του σπόρου, ανάλογα με τα είδη (Sullivan, 2003). Οι Bremer και van Kessel (1992) διαπίστωσαν ότι περίπου το 40% του N σε πράσινη κοπριά φακής ήταν δυνητικά διαθέσιμη για μεταγενέστερες καλλιέργειες σίτου στον Καναδά, αλλά το άχυρο φακής δεν ήταν σημαντική πηγή N. Οι Rochester *et al.*, (1998) ανέφεραν ότι 169

kg N / εκτάριο προστέθηκε στο έδαφος από φακές που χρησιμοποιήθηκαν ως πράσινη κοπριά στην Αυστραλία.

#### *Αμειψισπορά με φακές*

Οι μελέτες έχουν δείξει αυξημένες αποδόσεις και περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες των δημητριακών που καλλιεργούνται σε αμειψισπορά με φακές και άλλα όσπρια, σε σύγκριση με τη συνεχή καλλιέργεια δημητριακών (Wright, 1990, Stevenson και van Kessel, 1996, Gan *et al.*, 2003, Miller *et al.*, 2003). Αυτό το φαινόμενο της αμειψισποράς είναι πιθανώς το αποτέλεσμα πολλών αιτιών, όπως η προσθήκη N σε εδάφη (van Kessel και Hartley, 2000, Gan κ.ά., 2003), η αυξημένη εδαφική υγρασία (Miller *et al.*, 2002, 2003, Gan *et al.*, 2003) και η καταστολή ασθενειών (Stevenson και van Kessel, 1996).

Παρότι αναμένεται ότι η σταθεροποίηση του αζώτου θα ενισχύσει το έδαφος σε N, η ποσότητα που τελικά απομένει στο έδαφος εξαρτάται από την ποσότητα που απομακρύνεται με τους σπόρους κατά τη συγκομιδή. Οι σπόροι των οσπρίων εμφανίζουν υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και έτσι αφαιρούν μια σημαντική ποσότητα N από το έδαφος.

Η προσαύξηση N (Ninc, increment), είναι η επαυξητική μεταβολή του N στο χώμα λόγω των οσπρίων και συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τη σταθεροποίηση του αζώτου, αλλά είναι επίσης πολύ μεταβλητή. Εάν η ποσότητα του σταθερού N είναι μεγαλύτερη από την ποσότητα που αφαιρείται κατά τη συγκομιδή (δηλ.  $N_{inc} > 1$ ), τότε υπάρχει ένα καθαρό όφελος N για τις επόμενες καλλιέργειες.

Οι Bremer και van Kessel (1992) εκτίμησαν ότι περίπου το 7% του N σε υπολείμματα φακής ανοργανοποιήθηκε στην επόμενη καλλιεργητική περίοδο και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα υπολείμματα φακής δεν αποτέλεσαν σημαντική πηγή N για τις επόμενες καλλιέργειες. Παρόλο που οι φακές και άλλες καλλιέργειες οσπρίων ενδέχεται να μην συμβάλλουν πολύ σε N σε επόμενες καλλιέργειες, εξακολουθεί η ποσότητα να είναι μεγαλύτερη από το N που απελευθερώνεται από υπολείμματα σιτηρών. Συνολικά, η συμβολή της φακής στην υγεία του εδάφους σε συστήματα αμειψισποράς μπορεί να είναι συσσωρευτική και μπορεί να συνεπάγεται άλλα οφέλη εκτός του N, όπως η βελτίωση της υγρασίας του εδάφους και της καταστολής των ασθενειών.



## 1.8 Δείκτης συγκομιδής (Harvest index, HI)

Ο Donald (1962) ήταν ο πρώτος που χρησιμοποίησε τον όρο του δείκτη συγκομιδής (ΔΣ) για την καλλιέργεια του σιταριού και ορίστηκε ως ο λόγος της απόδοσης σε σπόρο προς τη συνολική υπέργεια βιομάζα. Στη συνέχεια, ο όρος χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα από τους ερευνητές σε διάφορα πειράματα και αποτέλεσε σημαντικό δείκτη για τη βελτίωση της απόδοσης στις εκτατικές καλλιέργειες (Donald και Hamblin 1976).

Ο δείκτης συγκομιδής ουσιαστικά εκφράζει το ποσοστό των υδατανθράκων που αφομοιώθηκαν από το φυτό και αποταμιεύτηκαν στο σπόρο και χρησιμοποιείται ευρύτατα και στα ψυχανθή (Hay 1995).

Ο δείκτης συγκομιδής μεταβάλλεται με τις περιβαλλοντικές συνθήκες και παίρνει υψηλότερες τιμές σε ευνοϊκές συνθήκες ανάπτυξης (Sharma *et al.*, 1987). Γενικά, η απόδοση μειώνεται με τη μείωση του δείκτη συγκομιδής (Bridger *et al.*, 1995), αλλά οι συνθήκες ανάπτυξης μπορεί να είναι τέτοιες που η απόδοση και η παραγωγή συνολικής βιομάζας να έχουν υψηλές τιμές και ο δείκτης συγκομιδής να έχει χαμηλές (Jeddel *et al.*, 1992).

Η βιολογική απόδοση όπως ορίζεται από τον Nichiporovich (1960) αντιπροσωπεύει τη συσσώρευση της ξηρής ουσίας ενός φυτικού συστήματος. Ακόμη ο λόγος της οικονομικής απόδοσης μιας καλλιέργειας (σπόροι) προς τη συνολική βιολογική απόδοση έχει αναφερθεί ως συντελεστής μετανάστευσης (Tsunoda, 1959), συντελεστής αποτελεσματικότητας (Nichiporovich, 1960) ή δείκτης συγκομιδής (Donald, 1962). Ο δείκτης συγκομιδής (ΔΣ), όπως έχει επικρατήσει, υπολογίζεται από την απόδοση ανά μονάδα επιφάνειας και τη συνολική ξηρά ουσία (συγκομιζόμενη απόδοση/συνολική ξηρή βιομάζα στην ωρίμανση).

Τα όσπρια γενικά είναι γνωστό ότι παράγουν επαρκώς υψηλή φυτική ύλη, αλλά έχουν πολύ μικρή απόδοση σε σπόρο, με αποτέλεσμα τον χαμηλό δείκτη συγκομιδής (JAIN, 1971). Μια τέτοια συμπεριφορά των οσπρίων φαίνεται να αποτελεί μέρος του ενσωματωμένου μηχανισμού τους προκειμένου να αντισταθμίζονται οι φυσικές καταπονήσεις στις οποίες συνήθως εκτίθενται. Γενικά, ο λόγος των σπόρων προς την φυτική ύλη στα όσπρια κυμαίνεται από 2: 3 έως 1: 2. Οι φακές δεν αποτελούν εξαίρεση σε αυτό και παράγουν δυσανάλογα μεγάλη βλαστική ανάπτυξη και υποστηρίζουν λιγότερους σπόρους.

Ο ΔΣ των σιτηρών θεωρείται ότι είναι σχετικά σταθερός, ενώ κάτι τέτοιο δεν ισχύει για τα όσπρια. Τα περισσότερα όσπρια είναι φυτά συνεχούς αύξησης, με υψηλό ποσοστό πτώσης ανθέων και λοβών, που μπορεί να φτάσει το 95% (McKenzie και Hill, 1990). Λόγω του ότι ο ΔΣ αποτελεί δείκτη της σχετικής συσσώρευσης των φωτοσυνθετικών προϊόντων στα αναπαραγωγικά μέρη, μπορεί να περιλαμβάνει και άλλα φυτικά τμήματα, εκτός των σπόρων, όπως τα περικάρπια (Murray *et al.*, 2010)

## 1.9 ΑΒΙΟΤΙΚΕΣ ΚΑΤΑΠΟΝΗΣΕΙΣ

### 1.9.1 Γενικά

Η παγκόσμια γεωργική παραγωγική υπόκειται σε περιβαλλοντικούς περιορισμούς, υπό τη μορφή των αβιοτικών καταπονήσεων, που επηρεάζουν δυσμενώς την ανάπτυξη και παραγωγικότητα των καλλιεργειών, πλήττοντας την οικονομική βιωσιμότητα μέσω της μείωσης της μέσης απόδοσης πάνω από 50% (Mittler 2006; Wu *et al.*, 2011). Οι Bray *et al.*, (2000) υπολόγισαν ότι το 51-82% του δυναμικού απόδοσης των ετήσιων καλλιεργειών χάνεται εξαιτίας ποικίλων αβιοτικών καταπονήσεων.

Οι αβιοτικές καταπονήσεις μειώνουν δραματικά τις αποδόσεις των καλλιεργειών που οδηγούν σε τεράστιες οικονομικές απώλειες και απειλή για την επισιτιστική ασφάλεια (Bray *et al.*, 2000; Cramer *et al.*, 2011), ένα πρόβλημα που πιθανόν να επιδεινωθεί από την κλιματική αλλαγή (Mittler και Blumwald, 2010; Lesk *et al.*, 2016). Ταυτόχρονα, ο παγκόσμιος πληθυσμός συνεχώς αυξάνεται, από 7 δισεκατομμύρια στα τέλη του 2011, αναμένεται να ξεπεράσει τα 9 δισεκατομμύρια μέχρι το 2050 (Ηνωμένα Έθνη, Τμήμα Οικονομικών και Κοινωνικών Υποθέσεων, Τμήμα Πληθυσμού, 2011). Κατά συνέπεια, η ζήτηση για παγκόσμια παραγωγή των καλλιεργειών αναμένεται να διπλασιαστεί μέχρι το 2050 (Tilman *et al.*, 2011). Ωστόσο, οι περισσότερες νέες εκτάσεις με δυνατότητες γεωργίας βρίσκονται σε μη ευνοϊκά περιβάλλοντα όπως ξηρές περιοχές και ερήμους, που καλύπτουν περίπου το 41% των παγκόσμιων εκτάσεων (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). Επομένως, η βελτίωση των αποδόσεων των καλλιεργειών υπό συνθήκες καταπονήσεων είναι ζωτικής σημασίας για την αποτροπή των απωλειών στις υπάρχουσες καλλιέργειες καθώς και για την καλλιέργεια σε περιθωριακές εκτάσεις.

Πολλές αβιοτικές καταπονήσεις όπως το ψύχος, η ξηρασία, η υψηλή θερμοκρασία, η αλατότητα, η ανεπάρκεια θρεπτικών συστατικών και η τοξικότητα των θρεπτικών συστατικών επηρεάζουν αρνητικά τις αποδόσεις της φακής παγκοσμίως (Saxena, 1993; Slinkard *et al.*, 1994).

Οι αβιοτικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως η ξηρασία και η αλατότητα, είναι σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των φυτών και την παραγωγικότητα, προκαλώντας έτσι σοβαρές απώλειες στην απόδοση (Muscolo *et al.*, 2011; Flowers).

Οι αποκρίσεις των φυτών στις καταπονήσεις εξαρτώνται από τον τύπο της καταπόνησης, από την έντασή της, από το είδος, αλλά και από τον γονότυπο.

### **1.9.2 Καταπόνηση αλατότητας**

Η παραγωγικότητα στις ξηρές και ημίξηρες περιοχές του κόσμου είναι πολύ χαμηλή λόγω πολλών πολύπλοκων παραγόντων όπως η συσσώρευση αλάτων στα εδάφη (Munns, 2002). Η συνολική έκταση υπό αλατότητα είναι περίπου 953 εκατομμύρια εκτάρια που καλύπτουν περίπου 8 τοις εκατό της επιφάνειας της γης του κόσμου (Singh, 2009). Υπολογίζεται ότι το 20% της συνολικής καλλιεργούμενης γης και σχεδόν το μισό της αρδευόμενης γης, είναι επηρεασμένο από την αλατότητα, μειώνοντας σημαντικά την απόδοση σε επίπεδα πολύ χαμηλότερα του γενετικού δυναμικού (van Schilfhaarde, 1994; Munns 2002; Flowers 2004). Έχει υπολογιστεί ότι περίπου το ένα τρίτο της αρδευόμενης γης έχει επηρεαστεί από την αλατότητα (Stockle, 2001). Η σταδιακή αλάτωση του εδάφους είναι ένα από τα πιο σοβαρά προβλήματα σε παγκόσμιο επίπεδο στον τομέα της γεωργικής παραγωγής (Pandey και Thakares, 1997), το οποίο οξύνεται κυρίως λόγω της μειωμένης ποιότητας του νερού άρδευσης (Rhoades & Loveday 1990; Flowers 2004). Το αλάτι είναι τόσο άφθονο στον πλανήτη μας που αποτελεί σημαντικό περιορισμό στην παγκόσμια παραγωγή των καλλιεργειών, θέτοντας σε κίνδυνο την ικανότητα της γεωργίας να υποστηρίξει την ταχεία αύξηση του ανθρώπινου πληθυσμού (Flowers, 2004).

Συνεπώς, νέες στρατηγικές για βελτίωση της σταθερότητας της απόδοσης σε αλατούχα εδάφη αποτελεί κύρια προτεραιότητα της έρευνας. Η αποκατάσταση των αλατούχων εδαφών είναι ένα ενδεχόμενο. Παρόλα αυτά, αυτή η προσέγγιση βασίζεται σε υποθέσεις και δεν τεκμηριώνεται από αδιάσειστα στοιχεία ως προς τη σκοπιμότητα της (Tester & Davenport, 2003). Μια συμπληρωματική στρατηγική είναι η αύξηση της αντοχής των καλλιεργειών στην

αλατότητα είτε μέσω γενετικής εκτροπής, χρησιμοποιώντας τόσο παραδοσιακές τεχνικές όσο και μοριακές μεθόδους βελτίωσης και βιοτεχνολογίας (Hasegawa *et al.*, 2000; Kryama *et al.*, 2001; Flowers 2004).

Οι επιζήμιες επιδράσεις της στην ανάπτυξη και το μεταβολισμό παρατηρούνται σε επίπεδο ολόκληρου του φυτού και συμβαίνουν ως συνέπεια αρκετών αλλαγών σε βασικές φυσιολογικές και βιοχημικές διεργασίες, όπως η φωτοσύνθεση, η σύνθεση πρωτεϊνών, ο μεταβολισμός ενέργειας και λιπιδίων, η ομοιόσταση ιόντων και η συσσώρευση οσμολυτών (Hasegawa *et al.*, 2000; Zhu 2002, Ashraf 2004).

Από τα όσπρια, η φακή είναι πιο ευαίσθητη στην αλατότητα σε σύγκριση με τα φασόλια και τη σόγια (Katerji *et al.*, 2001) και μια από τις πιο ευαίσθητες καλλιέργειες στην αλατότητα γενικότερα. Η απόδοση της φακής και η βιολογική της συμβολή σε N μειώνεται κατά 90-100% (Katerji *et al.*, 2003) σε ηλεκτρική αγωγιμότητα (ECe) 3.1. Σε πάνω από 0.8 ECe σε αλατούχα εδάφη, η ανεπάρκεια K και Ca (Finck, 1977) σε συνδυασμό με την τοξικότητα θεικών και χλωριούχων ιόντων Na έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη δημιουργία φυματίων των ψυχανθών (Bhardwaj, 1975). Η καταπόνηση της αλατότητας μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς το σχηματισμό φυματίων και τη σταθεροποίηση του N<sub>2</sub> (Rai και Singh, 1999; Rai *et al.*, 1985) προφανώς περιορίζοντας την ανάπτυξη των τριχιδίων της ρίζας και τις πιθανές θέσεις μόλυνσης από στελέχη του γένους *Rhizobium*. Ο συνδυασμός των ανωτέρω επιφέρει μείωση της ανάπτυξης και παραγωγικότητας.

Η καταπόνηση της αλατότητας επηρεάζει το ποσοστό της βλάστησης και ανάπτυξης του σπορόφυτου με διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με το είδος του φυτού (Ungar, 1996). Επίσης, αρκετές μελέτες έδειξαν ότι η εξέλιξη της ανθεκτικότητας στην αλατότητα δεν είναι η ίδια για όλες τους γονοτύπους ενός συγκεκριμένου είδους (Lutts *et al.*, 1995; Almansouri *et al.*, 2001).

Η βλάστηση του σπόρου είναι ένα από τα πιο σημαντικά γεγονότα στον κύκλο ζωής των ανώτερων φυτών. Όταν ένας βιώσιμος σπόρος εμποτίζεται, προσλαμβάνεται νερό, που ξεκινά την αναπνοή, την πρωτεϊνική σύνθεση και άλλες μεταβολικές δραστηριότητες. Η βλάστηση του σπόρου είναι το συνολικό άθροισμα όλων των φυσιολογικών διεργασιών που συμβαίνουν στο εσωτερικό του σπόρου που αρχίζει με την απορρόφηση νερού και ολοκληρώνεται με την εμφάνιση της εμβρυικής ρίζας (Evanari *et al.*, 1961). Η αλατότητα του εδάφους μπορεί να επηρεάσει της βλάστηση

των σπόρων είτε με την δημιουργία ωσμωτικού δυναμικού εξωτερικά στο σπόρο εμποδίζοντας την πρόσληψη του νερού, ή τις τοξικές επιδράσεις των ιόντων  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$  στους βλαστάνοντες σπόρους (Khajeh *et al.*, 2003). Υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας, υπάρχει μια μείωση στην πρόσληψη του νερού κατά την διάρκεια των αναρροφήσεων. Επιπλέον, η καταπόνηση άλατος μπορεί να προκαλέσει υπερβολική πρόσληψη ιόντων σε τοξικά για το φυτό επίπεδα (Murillo *et al.*, 2002). Τέτοιες επιδράσεις συνήθως οδηγούν σε μειωμένη ενζυματική μετατροπή των αποθηκευμένων αποθεμάτων σε σάκχαρα, με αποτέλεσμα την αναστολή της βλάστησης, την ατελή εμφάνιση των φυτών και την επακόλουθη κακή εγκατάσταση των φυτικών πληθυσμών (Khan και Gulzar 2003).

Ο προσδιορισμός του δυναμικού βλάστησης των σπόρων σε αλατούχες συνθήκες μπορεί να εμφανιστεί ως μια απλή και χρήσιμη παράμετρος για διάφορους λόγους. Πρώτον, η αντίσταση στην αλατότητα στο στάδιο αυτό φάνηκε να είναι ένα κληρονομικό χαρακτηριστικό το οποίο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένα αποτελεσματικό κριτήριο για την επιλογή των ανθεκτικών γονοτύπων στην αλατότητα (Ashraf *et al.*, 1990) , αν και είναι ένα πολυγονιδιακό γνώρισμα που συνδέεται με μια σύνθετη γενετική βάση (Mano *et al.*, 1997). Δεύτερον, οι σπόροι και τα νεαρά φυτά αντιμετωπίζουν συχνά πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις αλάτων από ότι τα έντονα αναπτυσσόμενα φυτά επειδή η βλάστηση εμφανίζεται συνήθως σε επιφανειακά εδάφη τα οποία συσσωρεύουν διαλυτά άλατα, ως αποτέλεσμα εξάτμισης και τριχοειδούς ανόδου του νερού (Almansouri *et al.*, 2001).

Η επιλογή γονοτύπων ανθεκτικών στην αλατότητα είναι ο πιο αποτελεσματικός τρόπος να αντιμετωπιστούν οι δυσμενείς επιπτώσεις της αλατότητας (Mahler *et al.*, 2003).

### **1.9.3 Καταπόνηση ξηρασίας**

Από το σύνολο των καταπονήσεων, η ξηρασία και η θερμότητα θεωρούνται οι σημαντικότερες σε παγκόσμιο επίπεδο (Turner *et al.*, 2001). Η καταπόνηση της ξηρασίας είναι ένας πολύ κοινός δυσμενής παράγοντας που επιφέρει μείωση της απόδοσης των καλλιεργειών φακής (Mishra *et al.*, 2014; Mishra και B.K , 2014) . Έρευνες αναφέρουν ότι η φακή είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στην ανεπάρκεια εδαφικής υγρασίας κατά τα στάδια του σπορόφυτου και της ανθοφορίας (Shrestha *et al.*, 2006; Yusuf *et al.*, 1979) , ενώ άλλες μελέτες αναφέρουν ότι περισσότερο κρίσιμες είναι οι

περίοδοι κατά την ανθοφορία και τα στάδια του σχηματισμού λοβού (Shrestha *et al.*, 2006; Mishra και B.K., 2014) . Παράλληλα, άλλες αναφορές υποδεικνύουν ότι οι γονότυποι της φακής εμφανίζουν ανοχή, καθώς και στρατηγικές αποφυγής, που παρουσιάζουν γονοτυπική εξάρτηση από το γονότυπο (Mishra και B.K, 2014; Vadez *et al.*, 2012)

Η άρδευση γενικά αυξάνει την απόδοση της φακής (Salehi *et al* 2008), βελτιώνοντας το μέγεθος των σπόρων, την απόδοση σε σπόρο, την απόδοση βιομάζας, και το δείκτη συγκομιδής (Singh & Saxena 1990; Silim *et al.*, 1993; Khourgami *et al.*, 2012). Έτσι, η επιτυχής εγκατάσταση των καλλιεργειών σε ημίξηρες περιοχές εξαρτάται από την ταχεία και ομοιόμορφη βλάστηση των σπόρων, η οποία σχετίζεται θετικά με την ικανότητα των σπόρων να βλαστήσουν υπό ανεπαρκή διαθεσιμότητα νερού (Arjenaki *et al.*, 2011).

Σε ημίξηρα περιβάλλοντα, όπου η φακή είναι ευρέως διαδεδομένη, η ανεπάρκεια εδαφικής υγρασίας κατά τη σπορά συχνά επιδρά δυσμενώς στην βλάστηση των σπόρων με αποτέλεσμα την ακανόνιστη εμφάνιση του σπορόφυτου, το οποίο με τη σειρά του επηρεάζει την εγκατάσταση της καλλιέργειας με αρνητικές επιπτώσεις στην απόδοση (Okcu *et al.*, 2005). Για τους λόγους αυτούς, η ανοχή στην ξηρασία κατά το στάδιο της βλάστησης είναι πολύ σημαντική, ιδιαίτερα σε θερμά περιβάλλοντα που απαντώνται ολοένα και περισσότερο λόγω της κλιματικής αλλαγής (IPCC 2007).

Η επιλογή φυτών με καλύτερη αντοχή στην ξηρασία είναι κρίσιμη σε ξηρά περιβάλλοντα (Ashraf *et al.*, 1992; Tuberosa και Salvi 2006). Ωστόσο, η ελεγχόμενη και ομοιόμορφα επαναλαμβανόμενη προσομοίωση της ξηρασίας στον αγρό δεν μπορεί να επιτευχθεί εύκολα (Shaheen και Hood-Nowotny 2005). Η αδυναμία ευχερούς ανάπτυξης ποικιλιών με γενετική ανθεκτικότητα στην ξηρασία αντικατοπτρίζει επίσης την έλλειψη κατάλληλων μεθόδων για την αξιολόγηση του μεγάλου αριθμού γονότυπων που απαιτείται για τη βελτίωση του γνωρίσματος (Zeigler και Puckridge 1995). Η αξιολόγηση υπό φυσικές συνθήκες υδατικής καταπόνησης στον αγρό καθίσταται δύσκολη, επειδή οι βροχοπτώσεις μπορούν να εξαλείψουν τα ελλείμματα νερού. Για τους λόγους αυτούς, οι *in vitro* μέθοδοι προσομοίωσης ξηρασίας και αξιολόγησης γενετικού υλικού υπό συνθήκες καταπόνησης συχνά προτιμώνται καθώς προσφέρουν τη δυνατότητα κατανόησης των μηχανισμών αντοχής και επιλογής ανθεκτικών γονότυπων. Στο πλαίσιο αυτό, οι Khakwani *et al.*, (2011) έδειξαν ότι

μεταξύ των έξι ποικιλιών σιταριού που εξετάστηκαν, εκείνοι που ήταν ανεκτικοί στην ξηρασία κατά τη διάρκεια των δοκιμών *in vitro* βλάστησης ήταν παρόμοια ανεκτικοί και σε συνθήκες αγρού. Επιπλέον, ο Agili *et al.* (2012) επιβεβαίωσε αυτό το εύρημα με πειράματα στην γλυκοπατάτα.

Η έκθεση σε διαλύματα πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG-6000) έχει χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για να μιμηθεί την καταπόνηση της ξηρασίας με περιορισμένες μεταβολικές παρεμβολές, όπως αυτές που σχετίζονται με τη χρήση οσμολυτών χαμηλού μοριακού βάρους που μπορούν να ληφθούν από το φυτό (Hohl και Schopfer 1991).

Η χρήση PEG έχει αποδειχθεί ότι είναι μια κατάλληλη μέθοδος για την αποτελεσματική αξιολόγηση *in vitro* μέσω, α μεγάλου αριθμού γονοτύπων με ικανοποιητική ακρίβεια (Kulkarni και Deshpande 2007).

Οι καλά αναπτυγμένες ρίζες και οι σθεναροί βλαστοί στο στάδιο της πρώιμης ανάπτυξης του σπορόφυτου είναι σημαντικές για την αποφυγή της και την ανοχή στη ξηρασία τόσο στις φακές όσο και σε άλλα όσπρια (Sarker *et al.*, 2005; Vadez *et al.*, 2008; Idrissi *et al.*, 2013).

#### **1.10 Σκοπός της εργασίας**

Σκοπός της εργασίας ήταν η ανάπτυξη ενός πρωτοκόλλου μελέτης και παρατήρησης της ανάπτυξης των φυματίων στη φακή, η διερεύνηση της ύπαρξης γενετικής παραλλακτικότητας ως προς τον αριθμό των φυματίων και τον ρυθμό ανάπτυξής τους και αλλά χαρακτηριστικά της ρίζας και η συσχέτισή τους με την παραγωγικότητα.

Ο δεύτερος σκοπός της εργασίας ήταν η αξιολόγηση έξι ποικιλιών φακής, εγχώριων και εισαγόμενων, ως προς την ανθεκτικότητά τους σε αβιοτικές καταπονήσεις και ειδικότερα στην καταπόνηση υψηλής αλατότητας και ξηρασίας, κατά τα στάδια της βλάστησης και της πρώιμης ανάπτυξης.

## **2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1 Μελέτη ανάπτυξης των φυματίων και επίδρασή τους στην παραγωγικότητα**

#### **2.1.1 Γενετικό υλικό**

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν εννέα ποικιλίες φακής, που συνιστούν εγχώριο και εισαγόμενο γενετικό υλικό. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν οι ελληνικές ποικιλίες Θεσσαλία, Δήμητρα, και Σάμος οι οποίες αποτελούν εγχώριο γενετικό υλικό το οποίο δημιουργήθηκε και διατηρείται στο Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοσκών (ΙΚΦΒ) του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ στη Λάρισα, και οι ξένες ποικιλίες Rosana, Anicia, Santa, Flora, Kleine Schwarze και Spaths Albinse Klein. Οι ποικιλίες Kleine Schwarze, Spaths Albinse klein είναι τοπικοί πληθυσμοί που κατάγονται από την Ελβετία και παραχωρήθηκαν από το Ελβετικό Ινστιτούτο Agroscope, Institute of Plant Production Sciences. Οι ποικιλίες Rosana, Anicia, Santa και Flora είναι γαλλικές της εταιρίας Agri Obtentions.

#### **2.1.2 Εγκατάσταση πειράματος**

Η εγκατάσταση του πειράματος έγινε στο Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών & Βοσκών του ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ (39°36'39.7"N 22°25'21.5"E) στη Λάρισα στις 08-12-2016, , . Συγκεκριμένα, σπάρθηκαν σε σάκους σποράς χωρητικότητας 5 λίτρων, σπόροι εννιά ποικιλιών φακής. Ο αριθμός των φυτών και σάκων σποράς ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση δίνονται στον Πίνακα 3. Οι σπόροι της 6<sup>ης</sup> μεταχείρισης σπάρθηκαν σε γλάστρες 12 λίτρων έτσι ώστε να υπάρχει η δυνατότητα πλήρους ανάπτυξης και ολοκλήρωσης του βιολογικού κύκλου. Το χώμα που χρησιμοποιήθηκε για τη σπορά ήταν από έδαφος του Ινστιτούτου και δεν έγινε λίπανση, σύμφωνα με τους όρους της οργανικής διαχείρισης. Τα χαρακτηριστικά του εδάφους φαίνονται στον Πίνακα 2.

Το έδαφος κοσκινίστηκε με κόσκινο ώστε να απομακρυνθούν τα μεγάλα συσσωματώματα χώματος και τυχόν ξένα σώματα που θα παρεμπόδιζαν το φύτεμα των σπόρων και την μετέπειτα ανάπτυξη των σποροφύτων. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν περίπου 15 σπόροι στη κάθε σακούλα και πιέστηκαν ελαφρά με το χέρι. Σε κάθε σάκο ή γλάστρα τοποθετήθηκε από γλωσσοπίεστρο με κωδικό αριθμό (αντιστοίχιση με αριθμό ποικιλίας, αριθμό γλάστρας, αριθμό δειγματοληψίας). Έγιναν



από 5 τρύπες στο πάτο κάθε σακούλας ώστε να εξασφαλιστεί η επαρκής αποστράγγιση. Στη συνέχεια οι σακούλες και οι γλάστρες τοποθετήθηκαν στο ύπαιθρο και ποτίστηκαν.

Πίνακας 2: Στοιχεία εδαφολογικής ανάλυσης του εδαφικού δείγματος στο οποίο έγινε ο πειραματισμός

Άμμος (%)	43
Αργίλος (%)	29
Ιλύς (%)	28
Χαρακτηρισμός Εδάφους	CL
pH (H <sub>2</sub> O 1:1) (25°C)	7,8
Ηλ. αγωγιμότητα στους 25°C (μS/cm)	710
Ισοδύναμο CaCO <sub>3</sub> (%)	1,1
Οργανική ουσία (%)	2,1
Φωσφόρος (P <sub>Olsen</sub> ) (mg/kg)	26
Ολικό Αζωτο (Kjeldahl) (N <sub>Kjeldahl</sub> ) (g/100g)	<b>0,16</b>
Ανταλλάξιμο κάλιο (cmol+/kg εδ.)	2,2
Ανταλλάξιμο μαγνήσιο (cmol+/kg εδ.)	8,0

Στις 28-01-2017, οι σακούλες και οι γλάστρες τοποθετήθηκαν μέσα σε θερμοκήπιο, λόγω επικράτησης εξαιρετικά δυσμενών καιρικών συνθηκών (χιόνι και παγωνιά).., Ωστόσο, στις 03-02-2017 έγινε επανασπορά λόγω της καταστροφής πολλών νεαρών φυταρίων. Επιπλέον, έγινε αραίωμα έτσι ώστε να αφεθεί ο αριθμός φυτών που προσδιορίστηκε στον αρχικό σχεδιασμό του πειράματος.

Κατά την διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών, γίνονταν τακτικά ποτίσματα ώστε να διατηρείται η απαραίτητη υγρασία για την ανάπτυξη των φυτών και να μην υπάρξει υδατική καταπόνηση. Οι σάκοι και οι γλάστρες διατηρήθηκαν καθαροί από ζιζάνια.

Πίνακας 3: Αριθμός φυτών και σάκων σποράς ανά ποικιλία και ανά μεταχείριση

	Δειγματοληψίες				
	I 1 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	II 4ο σύνθετο φύλλο	III 8ο σύνθετο φύλλο	IV Εμφάνιση ταξιανθιών	V Πλήρης άνθιση
Ποικιλίες	9	9	9	9	9
Γλάστρες/Ποικιλία	2	3	3	4	4
Σύνολο γλάστρες	18	27	27	36	36
Φυτά/γλάστρα/Ποικιλία	8	6	6	5	5

Σύνολο Φυτών/Ποικιλία	16	18	18	20	20
Σύνολο Φυτών	144	162	162	180	180

### 2.1.3 Προετοιμασία του ριζικού συστήματος για ανάλυση

Στις 28/02/2017, όταν τα φυτά ήταν στο βλαστικό στάδιο του 1<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου πραγματοποιήθηκε η 1<sup>η</sup> δειγματοληψία των ριζών. Τα φυτά αφαιρέθηκαν από τις σακούλες σποράς ώστε να μην υπάρξουν απώλειες του ριζικού συστήματος. Στη συνέχεια, κόπηκε το υπέργειο τμήμα τους ακριβώς κάτω από τις κοτυληδόνες και οι ρίζες πλύθηκαν ώστε να απομακρυνθούν όσο το δυνατόν περισσότερα υπολείμματα εδάφους χωρίς να καταστραφούν τα οζίδια ή οι πλευρικές ρίζες. Έπειτα, οι ρίζες τοποθετήθηκαν σε διάφανα σακουλάκια χωρητικότητας 1 λίτρου τα οποία πληρώθηκαν με νερό βρύσης και δύο κουταλιές της σούπας εξαμεταφωσφορικό νάτριο. Το εξαμεταφωσφορικό νάτριο έδρασε ως διασπартικό μέσο για τον πλήρη αποχωρισμό των υπολειμμάτων χώματος από το ριζικό σύστημα. Έπειτα, αφέθηκαν οι ρίζες για μια ολόκληρη ημέρα μέσα στο νερό και ακολούθησε η τοποθέτησή τους σε χαρτί έτσι ώστε να απομακρυνθεί η περίσσεια υγρασίας.

Για το καλύτερο και ευκολότερο άνοιγμα τους πάνω στον ηλεκτρονικό σαρωτή (HP scanjet 200) αλλά και για την καλύτερη απεικόνισή τους έπρεπε να μην είναι ούτε πολύ υγρές αλλά ούτε και να αφεθούν να στεγνώσουν πολύ. Έγινε τοποθέτηση της κάθε ρίζας ξεχωριστά πάνω στην επιφάνεια του σκάνερ έτσι ώστε η κεντρική ρίζα να βρίσκεται οριζόντια και οι πλευρικές να βρίσκονται δεξιά και αριστερά. Ανοίχτηκαν με τέτοιο τρόπο ώστε να μην υπάρχει αλληλοεπικάλυψη των ριζιδίων και να μπορούν να εντοπιστούν έπειτα τα φυμάτια. Έγινε σκανάρισμα κάθε ρίζας το αρχείο της οποίας αποθηκεύτηκε σε μορφή .JPG .

Ακριβώς η ίδια διαδικασία με την παραπάνω ακολουθήθηκε και στις επόμενες δύο δειγματοληψίες των ριζών στις 14/03/2017 και 30/03/2017, δηλαδή στο βλαστικό στάδιο του 4<sup>ου</sup> και 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου αντίστοιχα.

Στις 19/04/2017, δηλαδή στο βλαστικό στάδιο της εμφάνισης των ταξιανθιών, πραγματοποιήθηκε η 4<sup>η</sup> δειγματοληψία. Λόγω του ότι η έκταση του ριζικού συστήματος ήταν πολύ μεγαλύτερη από τις προηγούμενες συγκομιδές, ακολουθήθηκε μια διαφορετική μέθοδος αφαίρεσης του ριζικού συστήματος των φυτών. Κόπηκε και αφαιρέθηκε η πλαστική σακούλα και η μπάλα χώματος αρχικά τοποθετήθηκε μέσα σε

κουβά γεμάτο με νερό ώστε να απομακρυνθεί ο μεγαλύτερος όγκος εδάφους. Για να γίνει αυτό ανακινήθηκε η μπάλα χώματος μέσα στο νερό προσεκτικά με τα χέρια. Έπειτα, οι ρίζες πλύθηκαν με τρεχούμενο νερό μέτριας πίεσης (για να μην υπάρξει καταστροφή και απώλεια ριζικού συστήματος) για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα εδάφους. Στη συνέχεια κόπηκε το υπέργειο τμήμα ακριβώς πάνω από τις κοτυληδόνες και τοποθετήθηκαν σε διάφανα σακουλάκια μεγέθους 4 λίτρων. Ακολούθησε το γέμισμα των σακουλιών με νερό βρύσης και προστέθηκε σε κάθε ένα από αυτά δύο κουταλιές σούπας εξαμεταφωσφορικό νάτριο.

Οι ρίζες δεν τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστά διάφανα σακουλάκια κατά τη κοπή τους, γεγονός που οδήγησε στο δύσκολο διαχωρισμό τους. Συνεπώς, σε αυτό το στάδιο ανάπτυξης συνίσταται η τοποθέτηση της κάθε ρίζας σε ξεχωριστό σακουλάκι ώστε να μην υπάρχουν απώλειες κατά το διαχωρισμό τους.

Στις 21-22/04/2017, έγινε οπτικά η καταμέτρηση των φυματίων της κάθε ρίζας. Εξαιτίας του μεγάλου όγκου των ριζών δεν ήταν δυνατό να ανοιχτούν οι ρίζες και να τοποθετηθούν ενιαίες με κατάλληλο τρόπο ώστε να μπορεί να εφαρμοστεί το χρησιμοποιούμενο πρόγραμμα.

Στις 09/05/2017, δηλαδή στο στάδιο της πλήρους άνθισης, επαναλήφθηκε η παραπάνω διαδικασία για την 5<sup>η</sup> συγκομιδή. Επιπρόσθετα, υπολογίστηκε ο όγκος των ριζών, το νωπό και το ξηρό βάρος. Ο όγκος τους υπολογίστηκε με την βοήθεια ογκομετρικού σωλήνα. Γεμίστηκε ο ογκομετρικός σωλήνας με νερό ως ένα σημείο, τοποθετήθηκε μέσα η κάθε ρίζα και σημειώθηκε η νέα στάθμη του νερού. Η διαφορά στάθμης του νερού αποτελούσε και τον όγκο της εκάστοτε ρίζας. Το ξηρό βάρος υπολογίστηκε σε ζυγαριά ακριβείας μετά την παραμονή των ριζών σε ξηραντήριο για 48 ώρες στους 60°C.

Στις 20/06/2017, τα φυτά βρίσκονταν στο στάδιο της πλήρους ωρίμανσης οπότε και πραγματοποιήθηκε η συγκομιδή τους. Αφαιρέθηκαν με το χέρι από τις γλάστρες τα υπέργεια τμήμα των φυτών (5-6 φυτά/ γλάστρα) και τοποθετήθηκαν σε χάρτινες σακούλες. Ακολούθησε ζύγισμα του υπέργειου τμήματος και αλώνισμα τους με τη χρήση μικρής αλωνιστικής μηχανής. Έπειτα ζυγίστηκε ο σπόρος και το άχυρο του κάθε φυτού.

Το μήκος των ριζών μετρήθηκε με τη χρήση του προγράμματος ImageJ μέσω των φωτογραφιών που λήφθηκαν. Συγκεκριμένα, μετρήθηκε το συνολικό μήκος της κύριας

ρίζας και των δευτερευόντων. Με οπτική παρατήρηση των φωτογραφιών αυτιών έγινε καταμέτρηση των φυματίων στις κύριες και δευτερεύουσες ρίζες.

#### **2.1.4 Υπολογισμός Αζωτοδέσμευσης**

Ο υπολογισμός του αζώτου που αποδίδεται στην αζωτοδέσμευση έγινε σύμφωνα με τα ακόλουθα βήματα:

A) Υπολογισμός αζώτου που απορρίφθηκε από το φυτό (N uptake). Κοπή του υπέργειου τμήματος. Ζύγιση όλου του υπέργειου τμήματος για κάθε φυτό. Αλωνισμός ατομικών φυτών, διαχωρισμός σπόρου από το φυτικό μέρος. Ζύγιση του σπόρου. Στη συνέχεια, ο σπόρος με το φυτικό τμήμα αλέθονται σε μύλο και οδηγούνται για ανάλυση ολικού αζώτου ώστε να υπολογισθεί το άζωτο που απορρίφθηκε από το φυτό.

B) Εδαφολογική ανάλυση για ολικό άζωτο στο έδαφος κάθε γλάστρας.

Γ) Υπολογισμός αζώτου που οφείλεται στην αζωτοδέσμευση:

$$N \text{ που απορρίφθηκε από το φυτό} = (N \text{ που υπήρχε στο έδαφος αρχικά} - N \text{ που υπάρχει στο έδαφος μετά τη συγκομιδή}) + N \text{ που προήλθε από την αζωτοδέσμευση}$$

#### **2.1.5 Στατιστική ανάλυση**

Τα δεδομένα αναλύθηκαν στατιστικά με το στατιστικό πακέτο IBM SPSS Statistics 23 καθώς και το στατιστικό λογισμικό JMP v.8. Οι διαφορές μεταξύ των μέσων συγκρίθηκαν με την ελάχιστη σημαντική διαφορά (ΕΣΔ) (LSD). Για την διαπίστωση της ύπαρξης διαφορών μεταξύ των εννέα ποικιλιών έγινε ανάλυση της παραλλακτικότητας (ANOVA), για τα υπό μελέτη γνωρίσματα, και σύγκριση των μέσων όρων με τη βοήθεια του προγράμματος IBP SPSS Statistics 20.

## 2.2 Αβιοτικές καταπονήσεις

### 2.2.1 Γενετικό υλικό

Το φυτικό υλικό της μελέτης αποτέλεσαν 6 ποικιλίες φακής (*Lens culinaris* Medik.), που συνιστούν εγχώριο και εισαγόμενο υλικό, των οποίων η προσαρμογή σε διάφορες αγροκλιματικές συνθήκες δεν είναι διευκρινισμένη. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις ελληνικές τοπικές ποικιλίες, η Θεσσαλία, η Αθηνά, η Σάμος και η Ελπίδα που δημιουργήθηκαν και διατηρούνται από το Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών Φυτών και Βοσκών (ΙΚΦΒ) του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ στη Λάρισα και είναι εγγεγραμμένες στον Εθνικό Κατάλογο ποικιλιών. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε η ποικιλία Flip-03-24L του Ινστιτούτου ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas) της Συρίας και η ποικιλία Flora από τη Γαλλία.

Η ποικιλία Θεσσαλία σύμφωνα με το Ινστιτούτο Κτηνοτροφικών φυτών και Βοσκών Λάρισας (ΕΛΓΟ, 2012) προήλθε από επιλογή από πληθυσμό που είχε εισαχθεί από τη Γερμανία. Πρόκειται για μια πλατύσπερμη ποικιλία με βάρος 1000 σπόρων 60-65 γραμμάρια. Ο σπόρος έχει το χαρακτηριστικό πλατύ σχήμα με χρώμα ανοιχτό πράσινο ή υπόξανθο χωρίς στίγματα ή κηλίδες.

Η ποικιλία Αθηνά προήλθε από επιλογή εντός τοπικού πληθυσμού της περιοχής Ζαχαριανών Χανίων. Πρόκειται για μια λεπτόσπερμη ποικιλία με βάρος 1000 σπόρων 34-40 γραμμάρια. Ο σπόρος είναι “φακοειδής” με χρώμα ανοιχτό πράσινο ή υπόξανθο χωρίς στίγματα ή κηλίδες.

Η ποικιλία Σάμος προήλθε από τη διασταύρωση της πλατύσπερμης ελληνικής ποικιλίας “Θεσσαλία” με τη λεπτόσπερμη M-11071. Πρόκειται για μια λεπτόσπερμη ποικιλία με βάρος 1000 σπόρων 40-45 γραμμάρια. Ο σπόρος έχει το σχήμα φακού με χρώμα ανοιχτό πράσινο ή υπόξανθο χωρίς στίγματα ή κηλίδες.

Η ποικιλία Ελπίδα είναι μια λεπτόσπερμη ποικιλία με βάρος 1000 σπόρων: 44 γραμμάρια.

Η ποικιλία Flip-03-24L προήλθε από διασταυρώσεις του Ινστιτούτου ICARDA. Πρόκειται για μια μικρόσπερμη ποικιλία με βάρος 1000 σπόρων.

Η ποικιλία Flora είναι μια γαλλική ποικιλία, μεσοπρώιμη, ξανθού χρώματος.

### **2.2.2 Εγκατάσταση Πειράματος**

Το πείραμα διεξήχθησε κατά την περίοδο Δεκεμβρίου 2016 - Μαρτίου 2017 υπό συνθήκες εργαστηρίου σε θερμοκρασία δωματίου στο Εργαστήριο Γενετικής Βελτίωσης Φυτών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος (Σχολή Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας), στο Βόλο. Οι σπόροι επιλέχθηκαν για την ομοιογένεια του μεγέθους τους. Αξιολογήθηκαν για την αντοχή τους υπό συνθήκες ξηρασίας και υψηλής αλατότητας στο στάδιο της βλάστησης και της πρώιμης ανάπτυξης τους.

#### **Καταπόνηση Ξηρασίας**

Οι σπόροι απολυμάνθηκαν επιφανειακά για 5 λεπτά με 20% (v/v) διάλυμα χλωρίνης που περιείχε Tween-20, και ξεπλύθηκαν 4 φορές με άφθονο αποστειρωμένο νερό. Η καταπόνηση ξηρασίας προκλήθηκε με την μείωση του ωσμωτικού δυναμικού με την προσθήκη πολυαιθυλενικής γλυκόλης (PEG 6000). Οι απολυμασμένοι σπόροι φύτευαν και μεγάλωσαν σε πλαστικά δοχεία που περιείχαν 4 διαφορετικά διαλύματα : i) αποστειρωμένο απιονισμένο νερό, ii) 5% PEG, iii) 10% PEG, iv) 20% PEG. Τα φυτά στο απιονισμένο νερό αποτέλεσαν τα φυτά μάρτυρες. Καθόλη τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν τακτικός έλεγχος για το επίπεδο του περιεχόμενου διαλύματος, και όποτε κρινόταν απαραίτητο, γινόταν προσθήκη νερού ώστε να παραμείνει η συγκέντρωση του PEG σε σταθερό επίπεδο.

Τα φυτά αναπτύχθηκαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες (25°C, 16 ώρες φως/8 ώρες σκοτάδι) για χρονικό διάστημα 18 ημερών. Η πειραματική διάταξη ήταν πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο με τέσσερις επαναλήψεις, η καθεμιά αποτελούμενη από 50 σπόρους. Κάθε πειραματικό τεμάχιο (δοχείο) αποτελούταν από τέσσερις σειρές, εκ των οποίων οι δύο μεσαίες χρησιμοποιήθηκαν για να παρέχουν το υλικό για τις μετρήσεις.

#### **Καταπόνηση Αλατότητας**

Οι σπόροι απολυμάνθηκαν επιφανειακά για 5 λεπτά με 20% διάλυμα χλωρίνης, που περιείχε Tween-20 και έπειτα ξεπλύθηκαν 4 φορές με άφθονο αποστειρωμένο νερό. Η καταπόνηση της αλατότητας προκλήθηκε με την προσθήκη χλωριούχου νατρίου (NaCl) σε τρία διαφορετικά επίπεδα (50, 100, και 200 mM) ενώ συμπεριλήφθηκαν και μη καταπονημένα φυτά ως φυτά μάρτυρες. Τα δοχεία ελέγχονταν συχνά για το επίπεδο

του περιεχόμενου διαλύματος, και όποτε κρινόταν απαραίτητο, γινόταν προσθήκη νερού ώστε να παραμείνει η συγκέντρωση του NaCl σε σταθερό επίπεδο.

Τα φυτά αναπτύχθηκαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες (25°C, 16 ώρες φως/8 ώρες σκοτάδι) για χρονικό διάστημα 15 ημερών. Η πειραματική διάταξη ήταν πλήρως τυχαιοποιημένο σχέδιο με τέσσερις επαναλήψεις, η καθεμία αποτελούμενη από 50 σπόρους. Κάθε πειραματικό τεμάχιο (δοχείο) αποτελούταν από τέσσερις σειρές, εκ των οποίων οι δύο μεσαίες χρησιμοποιήθηκαν για να παρέχουν το υλικό για τις μετρήσεις.

### 2.2.3 Μετρήσεις

#### Καταπόνηση ξηρασίας

Η απόδοση των γονοτύπων υπό συνθήκες καταπόνησης ξηρασίας επαγόμενης από PEG αξιολογήθηκε σε καθημερινή βάση και αφορούσε στα ακόλουθα γνωρίσματα: ποσοστό βλάστησης (%) σε επτά χρονικά διαστήματα (1<sup>η</sup> έως 7<sup>η</sup> ημέρα), απορρόφηση νερού σπόρου (WU) (%) (4<sup>η</sup>, 6<sup>η</sup> και 8<sup>η</sup> ημέρα) περιεχόμενη υγρασία σπορόφυτου (WC) (%) (10<sup>η</sup> και 17<sup>η</sup> ημέρα), μήκος βλαστού και ριζιδίου (cm) (5<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup>, 9<sup>η</sup>, 11<sup>η</sup>, 13<sup>η</sup> και 3<sup>η</sup>, 5<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup>, 9<sup>η</sup> και 11<sup>η</sup> ημέρα αντίστοιχα) και αριθμός φυτών με μη φυσιολογικό φαινότυπο (από την 1<sup>η</sup> έως τη 18<sup>η</sup> ημέρα).

Οι σπόροι θεωρήθηκε ότι βλάστησαν όταν το ριζίδιο απέκτησε μήκος >2 mm. Η απορρόφηση νερού από τον σπόρο (WU) εκφράστηκε ως ποσοστό σύμφωνα με τον τύπο  $WU (\%) = \frac{W2 - W1}{W1} \times 100$ , όπου W1 = το αρχικό βάρος του σπόρου και W2 = το βάρος του σπόρου μετά την απορρόφηση νερού (Mujeeb-ur-Rahman *et al.*, 2008). Το WC υπολογίστηκε από 20 σπόρους (5 για κάθε επανάληψη) για κάθε ποικιλία. Η περιεκτικότητα σε νερό εκφράστηκε σαν ποσοστό σύμφωνα με τον τύπο  $WC(\%) = \frac{\text{νωπό βάρος} - \text{ξηρό βάρος}}{\text{νωπό βάρος}} \times 100$  (Black & Pritchard 2002). Για την εκτίμηση του ξηρού βάρους, 20 φυτάρια (5 ανά επανάληψη) κάθε ποικιλίας τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο στους 70 ° C για 2 ημέρες.

#### Καταπόνηση αλατότητας

Η αξιολόγηση της αντοχής στην αλατότητα πραγματοποιήθηκε με βάση το ποσοστό βλάστησης των σπόρων σε επτά διαφορετικά διαστήματα (1<sup>η</sup> έως 7<sup>η</sup> ημέρα), την απορρόφηση νερού από τον σπόρο (WU)(%) (5<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 11<sup>η</sup> ημέρα), το μήκος του ριζιδίου (3<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup> και 9<sup>η</sup> ημέρα), το μήκος του βλαστού (5<sup>η</sup>, 7<sup>η</sup>, 9<sup>η</sup> και 11<sup>η</sup> ημέρα), την

περιεκτικότητα των σποροφύτων σε νερό (WC)(%) (9<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα), το δείκτη ευρωστίας (seed vigor index) (SVI)(%) (7<sup>η</sup> και 15<sup>η</sup> ημέρα) και τον αριθμό των φυτών με μη φυσιολογικό φαινότυπο (από την 1<sup>η</sup> ως τη 15<sup>η</sup> ημέρα).

Οι σπόροι θεωρήθηκε ότι βλάστησαν όταν το ριζίδιο απέκτησε μήκος >2 mm. Η απορρόφηση νερού από τον σπόρο (WU) εκφράστηκε ως ποσοστό σύμφωνα με τον τύπο  $WU (\%) = W2 - W1 \times 100$ , όπου  $W1$  = το αρχικό βάρος του σπόρου και  $W2$  = το βάρος του σπόρου μετά την απορρόφηση νερού (Mujeeb-ur-Rahman *et al.*, 2008). Το WC υπολογίστηκε από 20 σπόρους (5 για κάθε επανάληψη) για κάθε ποικιλία. Η περιεκτικότητα σε νερό εκφράστηκε σαν ποσοστό σύμφωνα με τον τύπο  $WC(\%) = (\text{νωπό βάρος} - \text{ξηρό βάρος} / \text{νωπό βάρος}) \times 100$  (Black & Pritchard 2002). Για την εκτίμηση του ξηρού βάρους, 20 φυτάρια (5 ανά επανάληψη) κάθε ποικιλίας τοποθετήθηκαν σε ξηραντήριο στους 70 ° C για 2 ημέρες. Τέλος, ο δείκτης ευρωστίας του σπόρου (SVI) υπολογίστηκε με βάση τον τροποποιημένο τύπο  $SVI = \text{μήκος βλαστού (cm)} \times \text{ποσοστό βλάστησης}$  (Abdul-Baki & Anderson 1973).

#### **2.2.4 Στατιστική ανάλυση**

Τα δεδομένα αναλύθηκαν με ANOVA ( $p \leq 0.05$ ), σύμφωνα με τον πειραματικό σχεδιασμό, συνδυάζοντας τα επίπεδα καταπόνησης και τους γονοτύπους. Οι διαφορές μεταξύ των μέσων συγκρίθηκαν με την ελάχιστη σημαντική διαφορά (ΕΣΔ) (LSD). Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το στατιστικό λογισμικό JMP v. 8

### **3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

#### **3.1 Μελέτη ανάπτυξης των φυματίων και επίδρασή τους στην παραγωγικότητα**

##### **Αριθμός φυματίων**

Όλες οι ποικιλίες δημιούργησαν φυμάτια, πράγμα που επιβεβαιώνει την ύπαρξη ενδογενών ριζόβιων στο έδαφος τα οποία είναι συμβατά με τις αξιολογηθείσες ποικιλίες, και που σημαίνει ότι πέραν των ελληνικών προσαρμοσμένων ποικιλιών και οι ξένες ποικιλίες παρουσιάζουν συμβατότητα με το συγκεκριμένο ριζόβιο (*Rhizobium leguminosarum*).



Παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των φυματίων από τη μια δειγματοληψία στην επόμενη σε όλες τις ποικιλίες (Πίνακας 4). Η μέση αύξηση κυμάνθηκε από 30% (μεταξύ 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> δειγματοληψίας) έως 355% (μεταξύ 3<sup>ης</sup> και 4<sup>ης</sup> δειγματοληψίας). Όλες οι ποικιλίες παρουσίασαν την μέγιστη αύξηση του αριθμού των φυματίων μεταξύ της 3<sup>ης</sup> και 4<sup>ης</sup> δειγματοληψίας εκτός από την ποικιλία Δήμητρα, που εμφάνισε αύξηση της τάξης του 361% μεταξύ της 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> δειγματοληψίας.

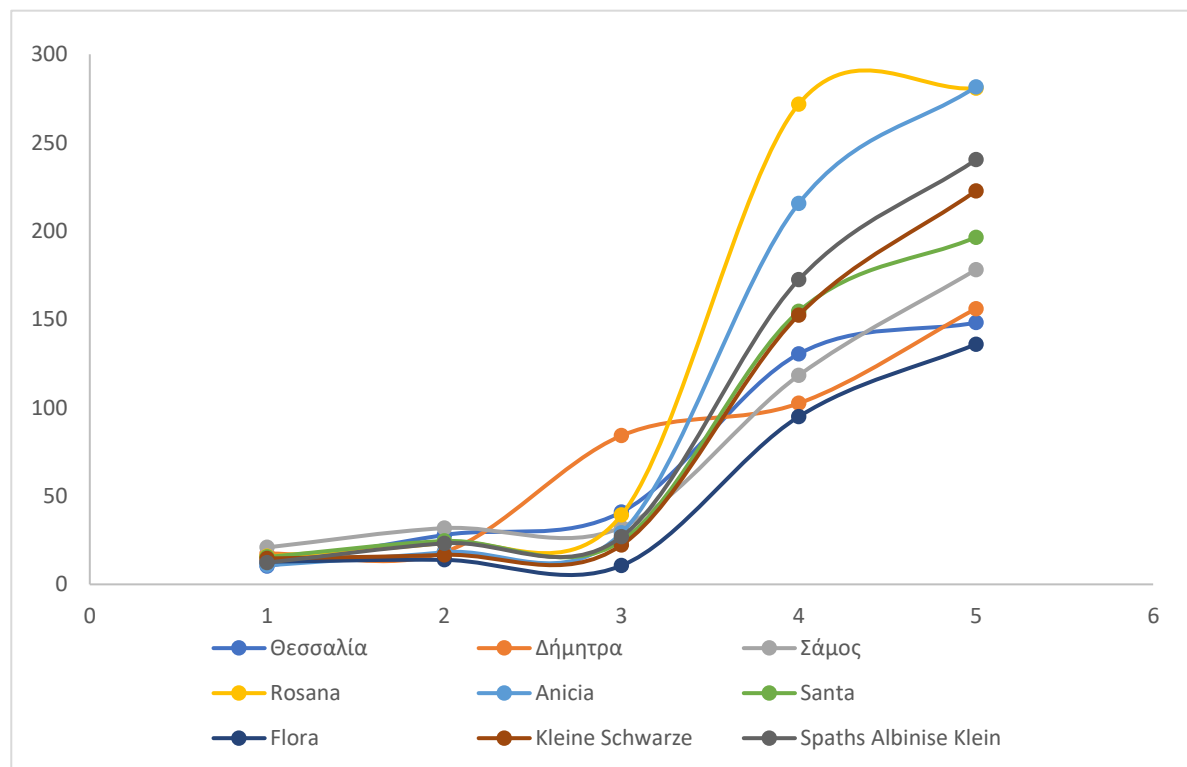
Η σειρά κατάταξης των ποικιλιών ως προς τον αριθμό των φυματίων ήταν διαφορετική μεταξύ των βλαστικών σταδίων. Η μέτρηση του αριθμού των φυματίων που λαμβάνονταν κατά τις πρώτες τρεις δειγματοληψίες ήταν πολύ διαφορετική από αυτή που παρουσιάστηκε κατά τις δύο τελευταίες. Αρχικά οι ελληνικές ποικιλίες Σάμος, Δήμητρα και Θεσσαλία παρουσίαζαν γενικά μεγαλύτερο αριθμό φυματίων, ενώ οι Anicia, Rosana και Spathis albinise klein από τους μικρότερους, κάτι που αντιστράφηκε στην πορεία της ανάπτυξης των φυτών προχωρώντας προς την άνθιση (Διάγραμμα 2). Τελικά, ο μέγιστος αριθμός φυματίων σύμφωνα με την τελευταία δειγματοληψία δημιουργήθηκε από την ποικιλία Anicia, ακολουθούμενη από την ποικιλία Rosana και την Spathis albinise klein. Ο μικρότερος αριθμός φυματίων ανά φυτό δημιουργήθηκε από την ποικιλία Flora ακολουθούμενη από τις ελληνικές ποικιλίες Θεσσαλία, Δήμητρα και Σάμος. Διαπιστώνεται ότι μεγαλύτερο αριθμό φυματίων δημιούργησαν οι ξένοι γονότυποι έναντι των ελληνικών (Πίνακας 4).

Θα πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι, σύμφωνα με οπτική αξιολόγηση, οι ελληνικές ποικιλίες υπερείχαν ως προς το μέγεθος, δηλαδή την χωρική έκταση την οποία καταλάμβαναν, σε σχέση με τις ξένες ποικιλίες. Κάτι τέτοιο βέβαια θα πρέπει να επιβεβαιωθεί με ακρίβεια πειραματικά μέσω υπολογισμού του ξηρού βάρους των φυματίων των φυτών φακής, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

Πίνακας 4 : Αριθμός ριζικών φυματίων για κάθε ποικιλία ανά βλαστικό στάδιο ανάπτυξης κατά την αντίστοιχη δειγματοληψία.

	Βλαστικό Στάδιο ανάπτυξης				
	1 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	4 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	8 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	Εμφάνιση ταξιανθιών	Πλήρης άνθιση
Θεσσαλία	10,20 d	27,93 ab	40,90 b	130,40 c	148,08 d
Δήμητρα	17,42 ab	18,24 cde	84,15 a	102,44 d	156,00 d
Σάμος	20,92 a	31,83 a	32,27 bc	118,25 cd	178,09 cd

Rosana	15,85 abc	23,58 bc	39,20 b	271,75 a	280,78 a
Anicia	10,73 cd	18,18 cde	29,10 bc	215,58 b	281,55 a
Santa	15,46 bcd	24,54 bc	24,60 c	154,44 bcd	196,42 bcd
Flora	12,85 bcd	13,87 e	10,60 d	94,89 d	135,91 d
Kleine Schwarze	14,64 bcd	16,69 de	22,20 d	152,38 bcd	222,69 bc
Spaths Albinise Klein	12,31 bcd	23,21 bcd	26,91 bc	172,38 bc	240,30 ab
Μέσος όρος	14,49	22,01	34,44	156,95	204,42
Μέσος ρυθμός αύξησης φυματίων μεταξύ βλαστικών σταδίων		51%	56%	355%	30%



Δ ι α γ ρ α μ μ α 2: Πορεία ανάπτυξης του αριθμού φυματίων για κάθε ποικιλία

## Ριζικό σύστημα

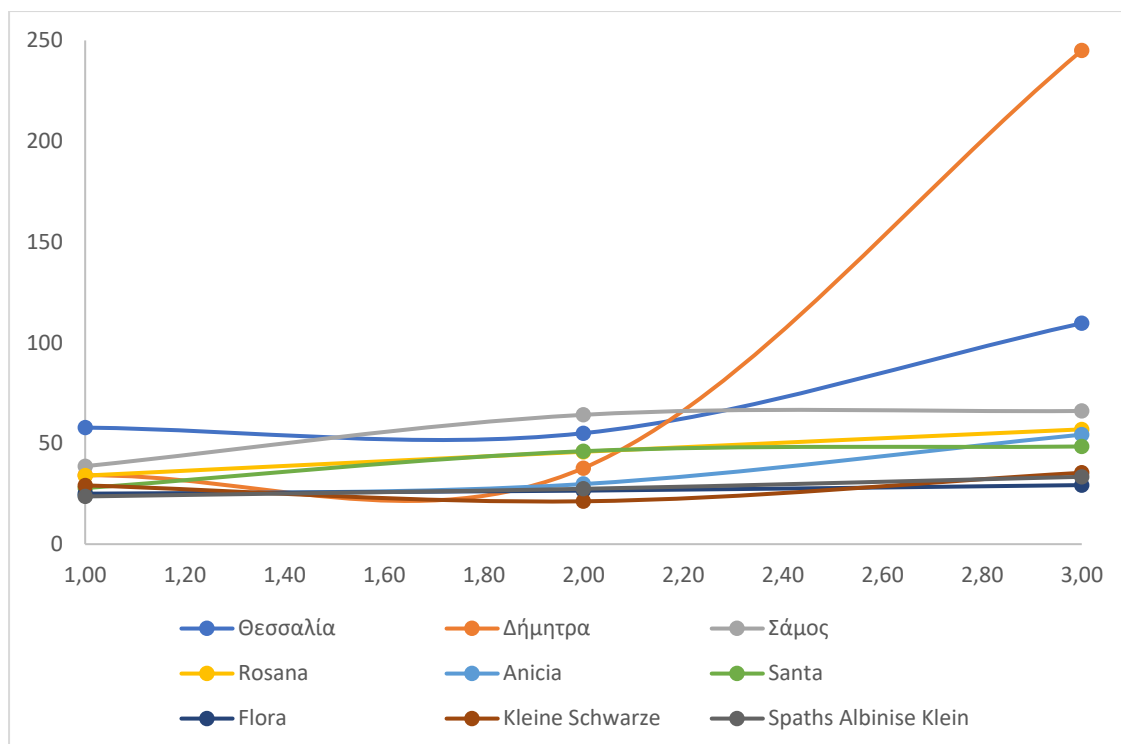
Παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των ποικιλιών για το μήκος των ριζών και στις 3 δειγματοληψίες που κατέστη δυνατή η μέτρηση του ριζικού συστήματος των ριζών.

Στο στάδιο του 1<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου η ποικιλία Θεσσαλία βρέθηκε να διαφέρει στατιστικά σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες υπό μελέτη ποικιλίες έχοντας αναπτύξει το μεγαλύτερο σε μήκος ριζικό σύστημα (58,1 εκ.), ενώ η ποικιλία Σάμος κατατάχθηκε στη δεύτερη θέση (38,7 εκ.). Στο στάδιο του 4<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου το μεγαλύτερο μήκος ριζών είχε η ποικιλία Σάμος (64,2εκ.) διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες ποικιλίες ακολουθούμενη από την ποικιλία Θεσσαλία της οποίας το μήκος ριζών (55,4εκ.) διέφερε στατιστικά σημαντικά από αυτό των ποικιλιών Δήμητρα, Anicia, Flora, Kleine Schwarze και Spaths albinise klein. Στο στάδιο του 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου, η ποικιλία Δήμητρα βρέθηκε να έχει το μεγαλύτερο μήκος ριζών (245,2 εκ.) διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες ποικιλίες και έχοντας από όλες πολύ μεγάλη διαφορά ως προς την έκταση του ριζικού συστήματος. Ακολούθησε η ποικιλία Θεσσαλία. Γενικά, το μικρότερο μήκος ριζών μέχρι το στάδιο του 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου παρουσίασαν οι ποικιλίες Anicia, Santa, Flora, Kleine Schwarze και Spaths albinise klein (Πίνακας 5).

Πίνακας 5: Μήκος (εκατοστά) του ριζικού συστήματος των ποικιλιών κατά τις τρεις πρώτες δειγματοληψίες

Ποικιλίες	Βλαστικό στάδιο ανάπτυξης		
	1 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	4 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	8 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο
Θεσσαλία	58,10a	55,07ab	109,60b
Δήμητρα	34,13bc	37,76cd	245,18a
Σάμος	38,70b	64,18a	66,09bc
Rosana	34,03bc	45,86c	56,96c
Anicia	24,24d	29,83de	54,36c
Santa	27,81cd	46,14bc	48,46c
Flora	25,06cd	26,56e	29,31c
Kleine Schwarze	29,17cd	21,28e	35,42c
Spaths Albinise Klein	23,68cd	27,47e	33,43c
Μέσος όρος	32,34	39,75	75,70
Μέσος ρυθμός αύξησης		23%	90%

Σημείωση: Οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με LSD ( $p \leq 0.05$ ).



Διάγραμμα 3: Πορεία ανάπτυξης μήκους ριζών (cm) των εννέα ποικιλιών φακής κατά τις τρεις δειγματοληψίες

Το μήκος του ριζικού συστήματος δεν βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με κανένα από τα υπό μελέτη χαρακτηριστικά των ποικιλιών. Στην δεύτερη ( $R=0.889^{**}$ )<sup>1</sup> και τρίτη ( $R=0.963^{**}$ ) δειγματοληψία βρέθηκε να υπάρχει ισχυρή συσχέτιση του συνολικού μήκους των ριζών και του αριθμού των φυματίων.

Βρέθηκε να συσχετίζεται σημαντικά ο αριθμός των φυματίων και του μήκους των ριζών μέσα σε κάθε ποικιλία. Η συσχετίσεις, παρόλα αυτά, παρουσίασαν διαφοροποιήσεις ανάλογα με τα στάδια ανάπτυξης. Γενικά, στο στάδιο του 4<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου, δηλαδή κατά την δεύτερη δειγματοληψία, βρέθηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση σχεδόν όλων των ποικιλιών ανάμεσα στο μήκος του ριζικού συστήματος και του αριθμού των δημιουργηθέντων φυματίων. Η ποικιλία Anicia ήταν η μόνη που δεν παρουσίασε σημαντική συσχέτιση των δύο χαρακτηριστικών στο στάδιο αυτό. Στο στάδιο του 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου οι ποικιλίες Δήμητρα ( $R=0.915^{**}$ ) και Rosana ( $R=0.926^{**}$ ) παρουσίασαν στατιστικά πολύ ισχυρή

<sup>1</sup> Σημείωση: Όταν ο συντελεστής συσχέτισης ακολουθείται από έναν αστερίσκο (\*) τότε δηλώνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση σε επίπεδο 0,05 (5%) και όταν ακολουθείται από δύο (\*\*) σε επίπεδο 0,01 (1%).

θετική συσχέτιση των δυο χαρακτηριστικών και οι ποικιλίες Σάμος και Anicia, παρουσίασαν μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Όλες οι υπόλοιπες ποικιλίες δεν παρουσίασαν κάποια σημαντική συσχέτιση των δυο χαρακτηριστικών στο στάδιο αυτό.

Πίνακας 6. Συντελεστές συσχέτισης αριθμού φυματίων ( R ) και μήκος ριζών

	Βλαστικό στάδιο ανάπτυξης		
	1 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	4 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο	8 <sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο
Θεσσαλία	,452	,751**	,245
Δήμητρα	,486	,704**	,915**
Σάμος	,767**	,719**	,621*
Rosana	,206	,583*	,926**
Anicia	,156	,579	,643*
Santa	,213	,569*	,562
Flora	,673*	,712**	,622
Kleine Schwarze	,289	,897**	,619
Spaths Albinise Klein	,897**	,925**	,569

Ο όγκος των ριζών μετρήθηκε στο τελευταίο στάδιο που τα φυτά βρισκόταν στην πλήρη άνθιση και βρέθηκε να διαφέρει στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις ποικιλίες. Η ποικιλία Θεσσαλία διέφερε σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες ποικιλίες έχοντας τον μεγαλύτερο όγκο ριζών ακολουθούμενη από την ποικιλία Σάμος. Η ποικιλία Flora είχε τον μικρότερο όγκο ριζών. Βρέθηκε στατιστικά ισχυρή συσχέτιση του όγκου και του ξηρού βάρους των ριζών ( $R=0.952$ ). Η συσχέτιση του όγκου των ριζών με τον αριθμό φυματίων της 5<sup>ης</sup> δειγματοληψίας ήταν αρνητική ( $-0,346$ ).

Πίνακας 7 Ξηρό βάρος (γραμμάρια) και όγκος ριζών κατά την πλήρη άνθιση.

	Ξηρό βάρος ρίζας	Όγκος ρίζας
Θεσσαλία	0,799a	11,333a
Δήμητρα	0,284dc	4,667bcd
Σάμος	0,506b	6,500b
Rosana	0,250e	4,000cd
Anicia	0,249e	4,000cd
Santa	0,468bc	5,000bc
Flora	0,220e	2,666d
Kleine Schwarze	0,359cde	3,833cd
Spaths Albinise Klein	0,401bcd	5,273bc

Σημείωση: Οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με LSD ( $p \leq 0.05$ ).

## Απόδοση σε σπόρο

Ως προς την απόδοση σε σπόρο βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες. Η ποικιλία Σάμος βρέθηκε να έχει την μεγαλύτερη απόδοση σε σπόρο (11,34 γρ.) διαφέροντας στατιστικά σημαντικά από τις ποικιλίες *Spaths albinise klein* (7,25 γρ.), *Kleine Schwarze* (7 γρ.) Θεσσαλία (5,4 γρ.) Santa (3,4 γρ.) και Flora (3,23 γρ.). Η δεύτερη σε απόδοση ήταν η ελληνική ποικιλία Δήμητρα (8,96 γρ.). Την μικρότερη απόδοση σε σπόρο είχε η ποικιλία Flora (Πίνακας 8). Το βάρος του σπόρου βρέθηκε να συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με την ολική υπέργεια βιομάζα ( $R=0.777^*$ ).

Πίνακας 8: Βάρος σπόρου, βάρος άχυρου και βάρος ολικής υπέργειας βιομάζας

	Βάρος σπόρου	Βάρος άχυρου	Βάρος ολικής βιομάζας
Θεσσαλία	5,41 bcd	15,35 bc	20,76 c
Δήμητρα	8,96 ab	19,16 ab	28,12 a
Σάμος	11,34 a	18,52 ab	29,86 a
Rosana	7,57 b	17,56 abc	25,13 abc
Anicia	8,54 ab	14,36 c	22,90 bc
Santa	3,43 cd	19,25 ab	22,68 bc
Flora	3,23 d	18,38 abc	21,60 c
Kleine Schwarze	7,00 bc	20,06 a	27,06 ab
Spaths Albinise Klein	7,25 b	15,74 bc	22,99 bc

Σημείωση: Οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν σημαντικά σύμφωνα με *LSD* ( $p \leq 0.05$ ).

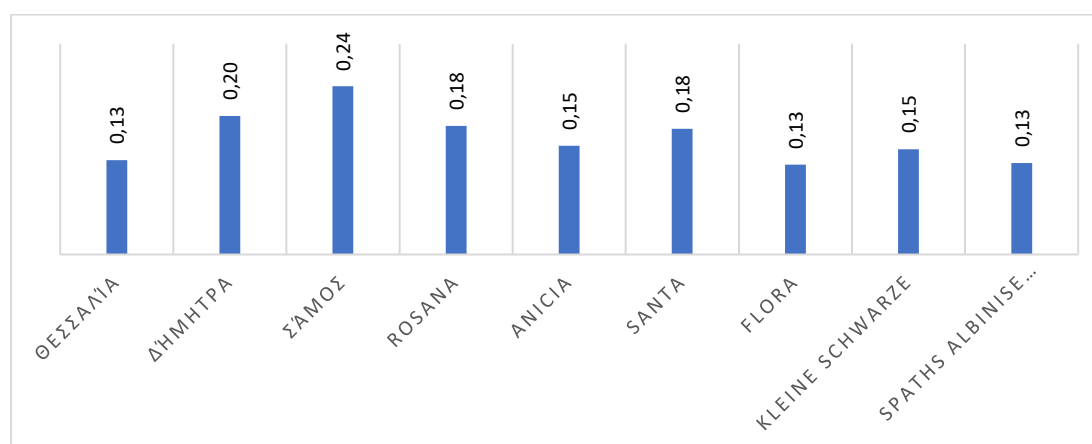
Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση του αριθμού φυματίων και της απόδοσης σε σπόρο των φυτών για όλες τις δειγματοληψίες με την τιμή του συντελεστή συσχέτισης κατά την 5<sup>η</sup> δειγματοληψία να είναι  $R=0,29$ .

Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση της απόδοσης σε σπόρο με την ολική βιομάζα ( $R=0,78$ ) και τον Δείκτη Συγκομιδής  $R=(0,93)$  κατά την πρώτη δειγματοληψία με την ολική βιομάζα των φυτών ( $R=0,871$ ) και την απόδοση σε άχυρο ( $R=0,682$ ) όχι όμως στις ακόλουθες δειγματοληψίες.

## Αζωτοδέσμευση

Όπως παρατηρούμε στο Διάγραμμα X η ποικιλία Σάμος παρουσίασε μεγαλύτερη αζωτοδέσμευση από τις υπόλοιπες ποικιλίες, χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες ποικιλίες Θεσσαλία, *Spaths albinise klein* και

Flora οι οποίες παρουσίασαν την χαμηλότερη αζωτοδέσμευση. Η ποικιλία Δήμητρα ήταν η δεύτερη σε παραγωγή N μέσω αζωτοδέσμευσης.



Δ ι ά γ ρ α μ μ α 4 : Ποσά αζώτου προερχόμενο από αζωτοδέσμευση των ποικιλιών (g N/100g εδάφους).

Παρατηρείται ισχυρή θετική συσχέτιση ( $R=0.908^{**}$ ) του αριθμού των φυματίων και του N που προήλθε από αζωτοδέσμευση μόνο κατά την πρώτη δειγματοληψία . Οι ποικιλίες Σάμος, Δήμητρα, Rosana και Santa που σχημάτισαν τα περισσότερα φυμάτια στο στάδιο αυτό, είναι και αυτές που αζωτοδέσμευσαν περισσότερο.

Επίσης στο στάδιο αυτό, παρατηρείται θετική συσχέτιση ( $R=0,773^{*}$ ) του αριθμού των φυματίων με το ολικό N της υπέργειας βιομάζας (σπόρος και άχυρο) των ποικιλιών. Η ποικιλία Σάμος είχε το περισσότερο ολικό άζωτο με την διαφορά αυτή να είναι στατιστικώς σημαντική από τις ποικιλίες Flora και Spaths albinise klein (Πίνακας 9).

Πίνακας 9: Αριθμός φυματίων στο στάδιο του 1<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου, άζωτο άχυρου, άζωτο σπόρου και ολικό άζωτο υπέργειας βιομάζας ανά ποικιλία.

Ποικιλίες	φυμάτια 1 <sup>ης</sup> δειγματοληψίας	N άχυρο (gr/100gr)	N σπόρος (gr/100gr)	Ολικό N υπέργειας βιομάζας (gr/100gr)
Θεσσαλία	10,20	0,153a	0,066bc	0,219ab
Δήμητρα	17,42	0,157a	0,112ab	0,268ab
Σάμος	20,92	0,162a	0,137a	0,299a
Rosana	15,85	0,149a	0,097ab	0,246ab
Anicia	10,73	0,133a	0,099ab	0,232ab
Santa	15,46	0,195a	0,065bc	0,260ab
Flora	12,85	0,165a	0,031c	0,196ab
Kleine Schwarze	14,64	0,191a	0,020c	0,211ab

Spaths albinise klein	12,31	0,147a	0,026c	0,173b
--------------------------	-------	--------	--------	--------

Από τα δεδομένα μας φαίνεται να υπάρχει μια στατιστικά ισχυρή συσχέτιση ( $R=0.808^{**}$ ) μεταξύ της ολικής υπέργειας βιομάζας και του N προερχόμενου από αζωτοδέσμευση, για όλες τις ποικιλίες.

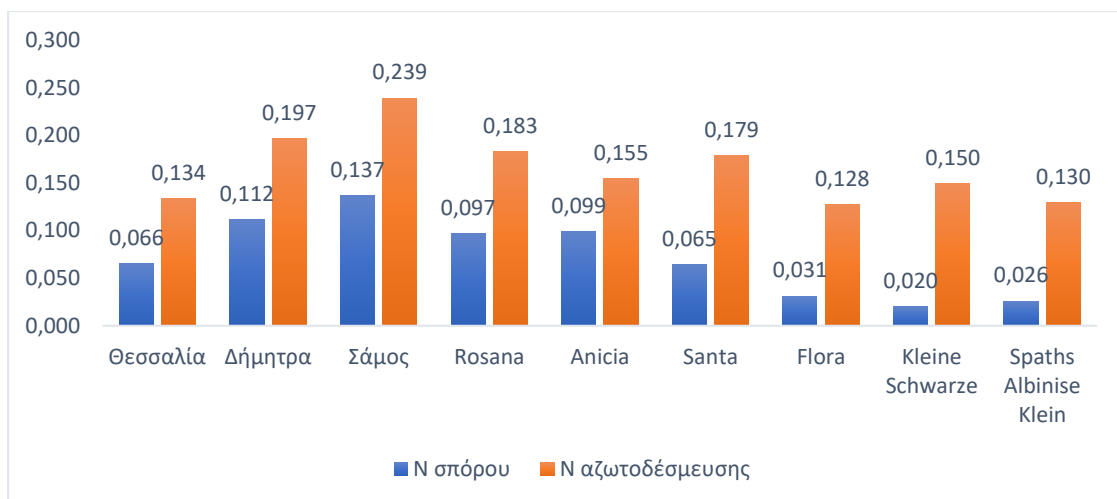
Το άζωτο που παράχθηκε μέσω αζωτοδέσμευσης συσχετίζεται θετικά με την απόδοση σε σπόρο των ποικιλιών χωρίς όμως αυτή η συσχέτιση να είναι στατιστικώς σημαντική ( $R=0.658$ ). Μια θετική αλλά όχι στατιστικά σημαντική συσχέτιση ( $R=0.410$ ) υπάρχει και μεταξύ του N αζωτοδέσμευσης και του παραγόμενου άχυρου.

Υπάρχει μια θετική συσχέτιση του ολικού αζώτου υπέργειας βιομάζας και της ολικής υπέργειας βιομάζας ( $R=0.643$ ).

### **Άζωτο σπόρου**

Η ANOVA για την περιεκτικότητα σε N στο σπόρο έδωσε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 9 γονοτύπων ενώ καταγράφηκε θετική, στατιστικά σημαντική, συσχέτιση ( $R=0.838^{**}$ ) μεταξύ του αζώτου του σπόρου και του αζώτου που προέρχεται από αζωτοδέσμευση. Φαίνεται ότι οι ποικιλίες που δέσμευσαν περισσότερο άζωτο, εναπόθεσαν και μεγαλύτερη ποσότητα αζώτου στον παραγόμενο σπόρο. Στο Διάγραμμα 5 παρουσιάζονται οι διαφορές μεταξύ των ποικιλιών τόσο ως προς την περιεκτικότητα του σπόρου σε N όσο και ως προς την ικανότητα αζωτοδέσμευσης. Έτσι, η ποικιλία Σάμος έδωσε την μεγαλύτερη ποσότητα N στο σπόρο ακολουθούμενη από τις ποικιλίες Δήμητρα, Anicia, Rosana, Θεσσαλία, Santa Flora, Spaths Albinise Klein και Kleine Schwarze.





Διάγραμμα 5: Περιεχόμενο άζωτο σπόρου και άζωτο προερχόμενο από αζωτοδέσμευση ανά ποικιλία.

### Δείκτης συγκομιδής (Harvest Index, HI)

Τον μεγαλύτερο δείκτη συγκομιδής παρουσίασε η ποικιλία Σάμος (0,377) ακολουθούμενη από την ποικιλία Anicia (0,370). Τον χαμηλότερο δείκτη συγκομιδής παρουσίασε η ποικιλία Flora (0,150) ακολουθούμενη από την ποικιλία Santa (0,151) οι οποίες διέφεραν στατιστικά σημαντικά από όλες τις υπόλοιπες ποικιλίες εκτός της Kleine Schwarze. Βρέθηκε μια πολύ ισχυρή γραμμική συσχέτιση του δείκτη συγκομιδής με το βάρος του συγκομιζόμενου σπόρου ( $R=0.931^{**}$ ). Δεν παρουσιάστηκε συσχέτιση του δείκτη συγκομιδής με κάποιο άλλο από τα υπό μελέτη χαρακτηριστικά.

### 3.2 Καταπόνηση ξηρασίας επαγόμενη από PEG

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η καταπόνηση της ξηρασίας επηρεάζει ουσιαστικά τις παραμέτρους που σχετίζονται με τη βλάστηση και την πρώιμη ανάπτυξη. Γενικά, η επίδραση της ξηρασίας ήταν ανάλογη του επιπέδου του επαγόμενου στρες, με τα υψηλότερα επίπεδα καταπόνησης να συνδέονται με περισσότερες δραστικές επιδράσεις για όλα τα υπό μελέτη γνωρίσματα. Επίσης, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η καταπόνηση ξηρασίας επαγόμενη από PEG δεν οδηγεί στην εμφάνιση φυτών με μη φυσιολογικό φαινότυπο καθώς δεν παρατηρήθηκαν τέτοια φυτά.

#### 3.2.1 Ποσοστό βλάστησης

Η βλάστηση επηρεάστηκε σημαντικά από το ωσμωτικό δυναμικό, από τις ποικιλίες καθώς και από την αλληλεπίδραση αυτών (Πίνακας 10). Όλες οι ποικιλίες ξεκίνησαν

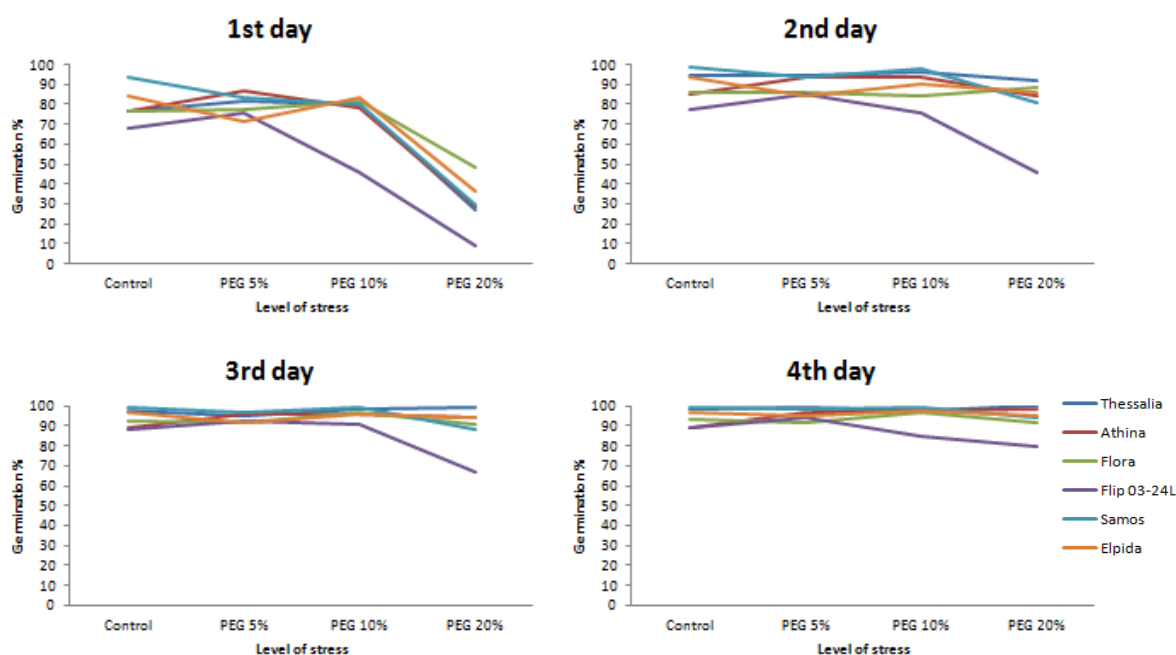
να βλαστάνουν από την 1<sup>η</sup> ημέρα, ενώ το τελικό ποσοστό βλάστησης τόσο των φυτών μαρτύρων όσο και των καταπονημένων έφτασε σχεδόν το 100% για κάθε ποικιλία (7<sup>η</sup> ημέρα). Παρ' όλα αυτά, το ποσοστό βλάστησης στις περισσότερες περιπτώσεις συσχετίστηκε με το επίπεδο καταπόνησης ειδικά τις ημέρες 1 έως 4 όπου η υψηλή καταπόνηση (20% PEG) παρουσίασε στατιστικά σημαντική μείωση της βλάστησης (Διάγραμμα 6). Εν αντιθέσει, η εκτεταμένη καταπόνηση (από την 5<sup>η</sup> ημέρα) δεν άλλαξε σημαντικά το ποσοστό βλάστησης. Παρόλο που επηρεάστηκαν σημαντικά την 1<sup>η</sup> ημέρα της καταπόνησης, οι ποικιλίες Θεσσαλία, Σάμος και Ελπίδα ήταν οι πιο ανθεκτικές, ενώ οι Flip03-24L αποδείχθηκε η πιο ευαίσθητη καθ' όλη τη διάρκεια των παρατηρήσεων.

**Πίνακας 10.** Ποσοστό βλάστησης (%) όπως επηρεάστηκε από τον γονότυπο (G) και την συγκέντρωση PEG (C) σε επτά διαφορετικά χρονικά διαστήματα (1-7 ημέρες) καταπόνησης της ξηρασίας.

Χρόνος (d)	Γονότυπος (G)	PEG συγκέντρωση (%) (C)				
		0	5	10	20	
1 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	76,50a	81,50a	80,00ab	27,00ab	66,25a
	Athina	76,50a	87,00a	78,00ab	29,00ab	67,625a
	Flora	76,50a	77,50a	81,50ab	48,00a	70,875a
	FLIP 03-24L	68,00a	75,50a	46,00b	9,00b	49,625b
	Samos	94,00a	83,50a	80,00ab	29,50ab	71,75a
	Elpida	84,50a	71,50a	83,00a	36,00ab	68,75a
	Mean (G)	79,33a	79,42a	74,75a	29,75b	
2 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	94,50a	94,50a	96,00ab	92,00a	94,25a
	Athina	85,50ab	94,00a	94,00ab	84,00a	89,37ab
	Flora	86,00ab	86,00a	84,00ab	88,50a	86,12b
	FLIP 03-24L	77,50b	85,50a	75,50b	46,00b	71,12c
	Samos	99,00a	93,50a	98,00a	81,00a	92,87a
	Elpida	93,50a	84,50a	90,00ab	86,00a	88,50ab
	Mean (G)	89,33a	89,67a	89,58a	79,58b	
3 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	97,50ab	95,00a	98,50a	99,00a	97,50a
	Athina	89,50bc	96,00a	96,00ab	94,50a	94,00ab
	Flora	92,50abc	92,00a	97,00a	91,00a	93,12b
	FLIP 03-24L	88,50c	92,50a	90,50b	66,50b	84,50c
	Samos	99,00a	97,00a	99,00a	88,00ab	95,75ab
	Elpida	97,00ab	92,00a	96,00ab	94,50a	94,87ab
	Mean (G)	94,00a	94,08a	96,16a	88,91b	
4 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	98,50a	99,00a	98,00a	100,00a	98,87a
	Athina	89,50b	97,00a	98,00a	98,50a	95,75bc

Flora	93,00ab	92,00a	96,50a	91,50a	93,25c
FLIP 03-24L	89,50b	94,50a	84,50a	79,50b	87,00d
Samos	99,50a	98,50a	99,50a	94,00a	97,87ab
Elpida	97,00ab	95,00a	98,00a	95,00a	96,25abc
Mean (G)	94,50ab	96,00a	95,75a	93,08b	
5 <sup>th</sup>					Mean (C)
Thessalia	98,50ab	99,50a	98,50a	100,00a	99,12a
Athina	92,50ab	93,50a	98,50a	99,00a	95,87bc
Flora	94,50ab	95,50a	97,00ab	93,00ab	95,00c
FLIP 03-24L	91,50b	96,50a	88,50b	85,00b	90,37d
Samos	100,00a	99,50a	99,50a	94,50a	98,37ab
Elpida	97,00ab	96,50a	98,00ab	97,00a	97,12abc
Mean (G)	95,67a	96,83a	96,67a	94,75a	
6 <sup>th</sup>					Mean (C)
Thessalia	98,50ab	99,50a	98,50a	100,00a	99,12a
Athina	91,50bc	97,00a	99,00a	95,50a	95,75bc
Flora	94,50abc	93,50a	97,00ab	91,00a	94,00cd
FLIP 03-24L	89,50c	95,50a	89,00b	94,00a	92,00d
Samos	100,00a	99,50a	99,50a	94,00a	98,25ab
Elpida	97,00abc	96,50a	98,50a	98,00a	97,50ab
Mean (G)	95,16a	96,91a	96,91a	95,41a	
7 <sup>th</sup>					Mean (C)
Thessalia	99,00ab	99,50a	98,50a	100,00a	99,25a
Athina	91,50bc	97,00a	99,50a	96,50a	96,12bc
Flora	95,00abc	93,50a	97,50a	93,00a	94,75c
FLIP 03-24L	90,00c	96,00a	89,00b	92,00a	91,75d
Samos	100,00a	99,50a	100,00a	97,50a	99,25a
Elpida	97,50abc	96,50a	98,50a	98,00a	97,62ab
Mean (G)	95,50a	97,00a	97,16a	96,16a	

Σημείωση: Σε κάθε μέτρηση (ημέρες), οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με την ΕΣΔ ( $p \leq 0.05$ ).



Διάγραμμα 6: Ποσοστό βλάστησης (%) έξι ποικιλιών φακής σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης ξηρασίας σε τέσσερα διαφορετικά χρονικά διαστήματα

### 3.1.2 Περιεχόμενη υγρασία (WC) και απορρόφηση νερού από τον σπόρο (WU)

Όπως ήταν αναμενόμενο, τόσο το WU όσο και το WC αυξήθηκαν με τη διάρκεια καταπόνησης σε όλες τις ποικιλίες και σε όλες τις μεταχειρίσεις. Σε όλες τις περιπτώσεις επίσης, τα αποτελέσματα δείχνουν μια τάση μείωσης των WU και WC με την αύξηση της έντασης του στρες στο οποίο υπάγονται (Πίνακες 11 και 12). Στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης, η ποικιλία Θεσσαλία και η Flip 03-24L παρουσίασαν τη χαμηλότερη και υψηλότερη μείωση του WU αντίστοιχα.

Πίνακας 11 : Υδατική απορρόφηση σπόρου (WU) (%) όπως επηρεάστηκε από τον γονότυπο (G) και συγκέντρωση PEG (C) μετά από 4, 6 και 8 ημέρες καταπόνησης ξηρασίας.

Χρόνος (d)	Γονότυπος (G)	PEG συγκέντρωση (%) (C)				
		0	5	10	20	
4 <sup>η</sup>						Mean (C)
	Thessalia	65,47ab	65,90bc	63,07bc	59,00a	63,35bc
	Athina	65,34ab	61,59d	59,69d	59,73a	61,58c
	Flora	68,53ab	69,75a	66,40a	56,72a	65,35a
	FLIP 03-24L	69,03a	70,33a	64,30abc	56,41a	65,01ab
	Samos	64,84b	63,32cd	61,28cd	39,88b	57,32d
	Elpida	69,27a	67,52ab	65,76ab	57,45a	64,99ab
	Mean (G)	67,08a	66,40a	63,41b	54,86c	
6 <sup>η</sup>						Mean (C)
	Thessalia	68,31de	69,68ab	63,92b	66,63ab	67,13cd

Athina	69,71cd	70,47ab	70,10a	65,27ab	68,88b
Flora	72,98b	72,91a	66,61ab	70,36a	70,71a
FLIP 03-24L	74,70a	71,94ab	65,32ab	59,56cd	67,87bc
Samos	69,86c	69,93ab	69,74a	54,88d	66,10d
Elpida	66,85e	68,64b	69,09a	63,10bc	66,92cd
Mean (G)	70,40a	70,59a	67,46b	63,29c	
8 <sup>η</sup>					Mean (C)
Thessalia	75,71a	75,92a	74,43b	67,73ab	73,44b
Athina	74,90a	73,55a	73,62b	62,83c	71,22c
Flora	77,17a	77,59a	78,42a	71,02a	76,05a
FLIP 03-24L	77,47a	76,86a	70,75c	65,65bc	72,68b
Samos	76,55a	76,63a	70,88c	67,09b	72,78b
Elpida	73,95a	74,49a	71,14c	62,86c	70,60c
Mean (G)	75,95a	75,84a	73,20b	66,19c	

Σημείωση: Σε κάθε μέτρηση (ημέρες), οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με την ΕΣΔ ( $p \leq 0.05$ ).

Πίνακας 12: Περιεχόμενη υγρασία (WC) (%) σποροφύτων φακής όπως επηρεάστηκαν από τον γονότυπο (G) και τη συγκέντρωση PEG (C) μετά από 10 και 17 ημέρες καταπόνησης ξηρασίας.

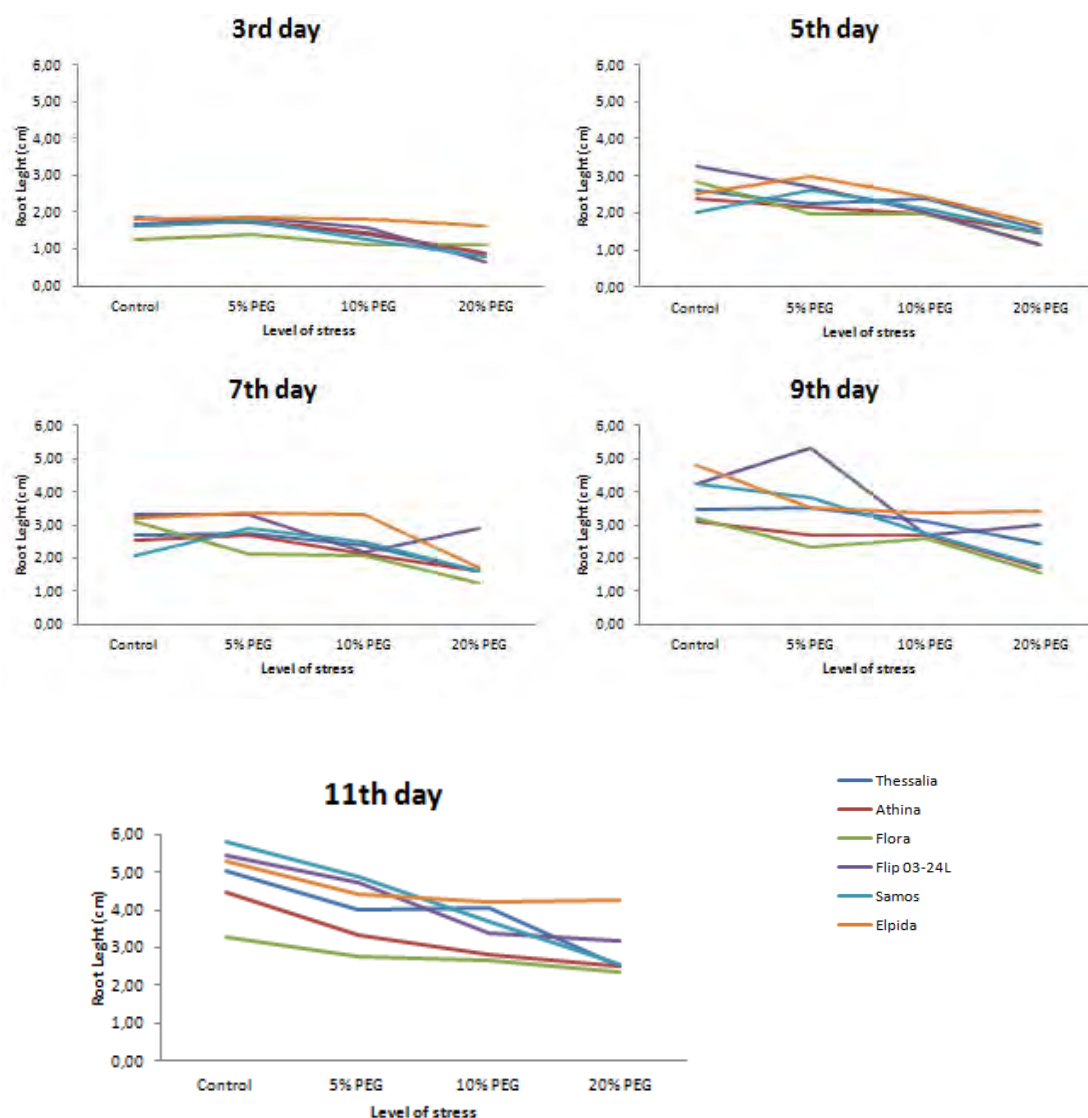
Χρόνος (d)	Γονότυπος (G)	PEG συγκέντρωση (%) (C)				
		0	5	10	20	
10 <sup>th</sup>		Mean (C)				
	Thessalia	94,58b	93,11c	92,27c	93,35bc	93,32c
	Athina	96,21ab	94,79b	94,58b	93,79b	94,84b
	Flora	97,57a	97,44a	96,43a	96,88a	97,07a
	FLIP 03-24L	94,62b	93,91bc	94,01b	91,70c	93,55c
	Samos	94,54b	93,53bc	93,59bc	93,02bc	93,66c
	Elpida	92,03c	90,83d	90,46d	88,82d	90,53d
	Mean (G)	94,92a	93,93b	93,55b	92,92c	
17 <sup>th</sup>		Mean (C)				
	Thessalia	96,44b	95,82b	94,79b	92,84c	94,97d
	Athina	97,05b	97,03b	95,92b	94,67b	96,17b
	Flora	98,86a	98,92a	98,55a	96,81a	98,28a
	FLIP 03-24L	96,76b	96,07b	95,17b	94,56bc	95,64c
	Samos	97,06b	96,02b	95,47b	94,47bc	95,75bc
	Elpida	94,51c	93,93c	91,08c	91,06d	92,64e
	Mean (G)	96,78a	96,29b	95,16c	94,06d	

Σημείωση: Σε κάθε μέτρηση (ημέρες), οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με την ΕΣΔ ( $p \leq 0.05$ ).

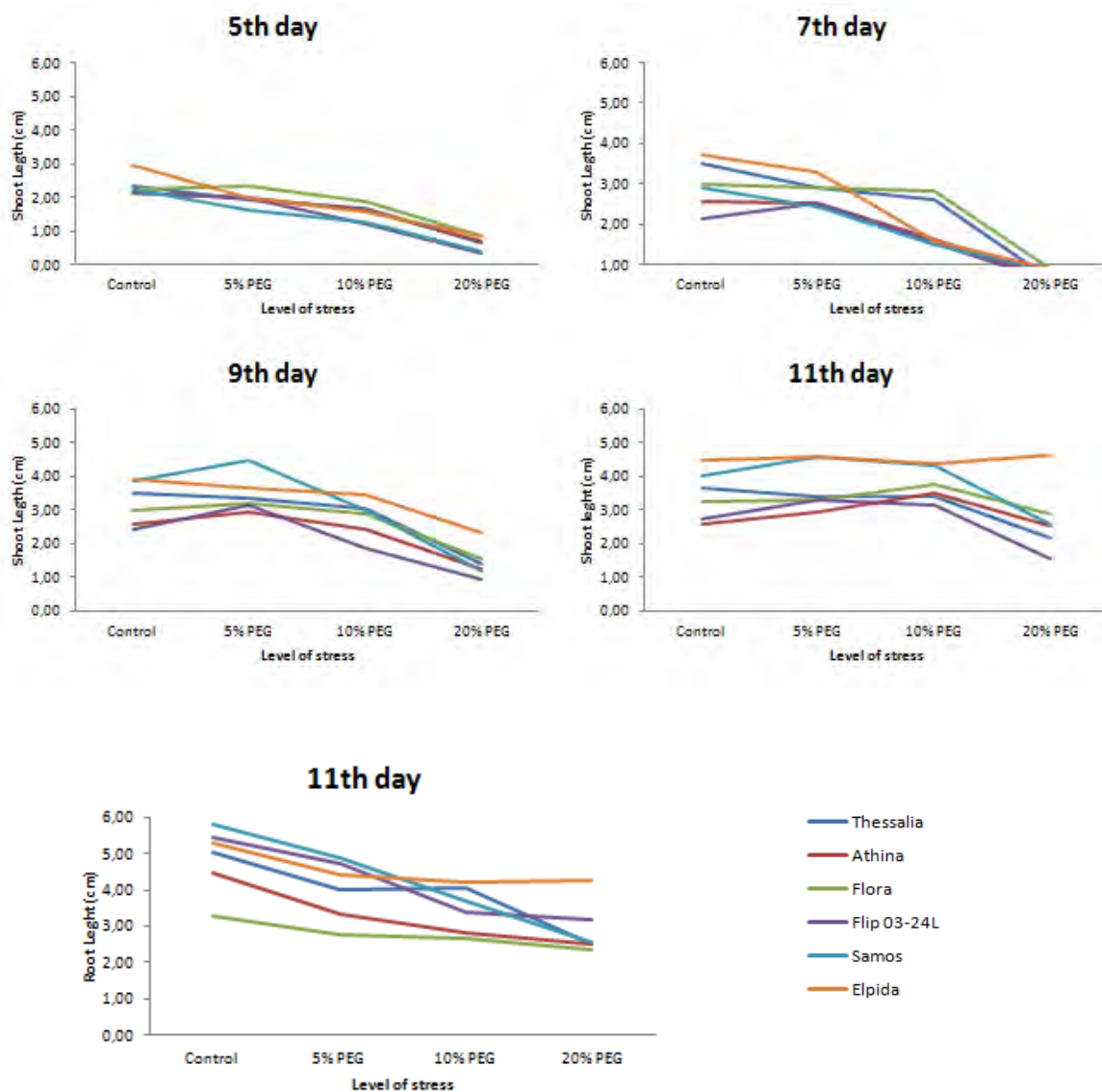
### 3.2.3 Μήκος βλαστού και ριζιδίου

Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μήκος του ριζιδίου και του βλαστού μεταξύ των ποικιλιών, του επιπέδου καταπόνησης και της

αλληλεπίδρασης αυτών (διαγράμματα 7 και 8). Γενικά, οι αυξημένες συγκεντρώσεις PEG είχαν ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση του μήκους και για τους δύο τύπων ιστού. Κάτω από συνθήκες χαμηλής καταπόνησης (5% PEG) ωστόσο, αυτή η μείωση σε ορισμένες περιπτώσεις δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Αντίθετα, το υψηλό επίπεδο καταπόνησης οδήγησε σε δραστική μείωση του ρυθμού επιμήκυνσης τόσο των βλαστών όσο και των ριζών σε όλες τις ποικιλίες. Για το υψηλότερο επίπεδο καταπόνησης, η πιο σημαντική μείωση του μήκους της ρίζας παρατηρήθηκε στην ποικιλία Σάμος, ενώ η μικρότερη μείωση σημειώθηκε στην ποικιλία Ελπίδα. Όσον αφορά το μήκος των βλαστών, η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στην ποικιλία Flip 03-24L, ενώ η μικρότερη στην ποικιλία Ελπίδα.



Διάγραμμα 7: Μήκος ρίζας (cm) από έξι ποικιλίες φακής σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης ξηρασίας επαγόμενης από PEG και πέντε χρονικά διαστήματα



Διάγραμμα 8: Μήκος βλαστού (cm) από έξι ποικιλίες φακής σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης ξηρασίας, επαγόμενης από PEG, και πέντε χρονικά διαστήματα

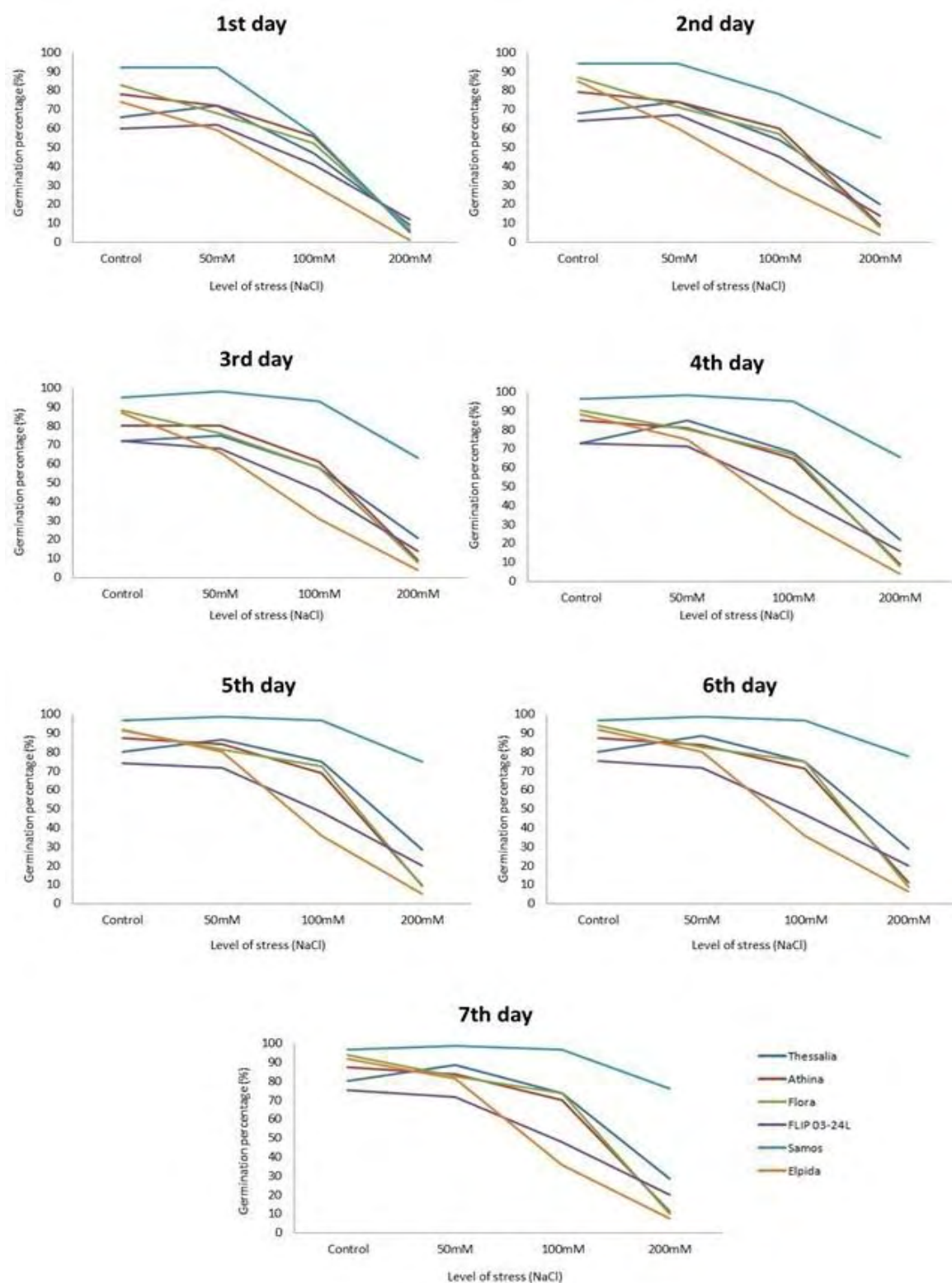
### 3.3 Καταπόνηση υψηλής αλατότητας

Όπως δείχθηκε από τα συνολικά δεδομένα, υπήρξε έντονη διαφοροποίηση μεταξύ των έξι γονότυπων που ελέγχθηκαν για όλες τις μεταβλητές που μετρήθηκαν. Λαμβάνοντας υπόψη το σχετικά μικρό εύρος του γενετικού υλικού που ερευνήθηκε, τα ευρήματα αποδεικνύουν την ύπαρξη σημαντικής γενετικής διαφοροποίησης για το χαρακτηριστικό της ανοχής της φακής στην αλατότητα.

### 3.3.1 Ποσοστό βλάστησης

Τα ευρήματά μας αποκάλυψαν ότι η βλάστηση επηρεάζεται σημαντικά από την αλατότητα, με την επίδραση να είναι ανάλογη του επαγόμενου επιπέδου καταπόνησης (Διάγραμμα 9) (Πίνακας 13). Συνεπώς, στο χαμηλό επίπεδο στρες (50 mM), δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές καθ' όλη τη διάρκεια των παρατηρήσεων. Αντίθετα, υψηλότερα επίπεδα στρες (100, 200 mM) είχαν ως αποτέλεσμα σημαντικές διαφορές στο ποσοστό βλάστησης, ενώ οι περισσότερες δραστηκές επιδράσεις σημειώθηκαν στο επίπεδο καταπόνησης 200 mM NaCl. Με εξαίρεση την ποικιλία Σάμος, που διατήρησε υψηλό ποσοστό βλάστησης ακόμη και στο υψηλό επίπεδο καταπόνησης (77,5% την 7η ημέρα), όλες οι άλλες ποικιλίες χαρακτηρίζονταν από μια έντονα μειωμένη βλάστηση. Η χειρότερη ποικιλία όσον αφορά αυτό το χαρακτηριστικό ήταν η Ελπίδα (7,5% την 7η ημέρα).





Διάγραμμα 9: Ποσοστό βλάστησης (%) έξι ποικιλιών φακής σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης αλατότητας σε επτά διαφορετικά χρονικά διαστήματα.

**Πίνακας 13:** Ποσοστό βλάστησης (%) όπως επηρεάστηκε από τον γονότυπο (G) και η συγκέντρωση NaCl (C) σε επτά διαφορετικές χρονικές στιγμές (1-7 ημέρες) της καταπόνησης υψηλής αλατότητας.

Χρόνος (d)	Γονότυπος (G)	Συγκέντρωση NaCl (mM) (C)				
		0	50	100	200	
1 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	66,00b	72,00a	47,00a	9,00a	48,50bc
	Athina	78,00ab	72,00a	56,00a	6,00a	53,00ab
	Flora	83,00ab	68,00a	52,00a	7,00a	52,50b
	FLIP 03-24L	60,00b	62,00a	41,00a	12,00a	43,75c
	Samos	92,00a	92,00a	57,00a	5,00a	61,50a
	Elpida	74,00ab	59,00a	30,00a	1,00a	41,00c
	Mean (G)	75,50a	70,83a	47,16b	6,66c	
2 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	68,00bc	74,00ab	54,00ab	20,00b	54,00bc
	Athina	79,00abc	74,00ab	60,00ab	9,00b	55,50bc
	Flora	87,00ab	71,00ab	57,00ab	8,00b	55,75b
	FLIP 03-24L	64,00c	67,00ab	45,00b	14,00b	47,50cd
	Samos	94,00a	94,00a	78,00a	55,00a	80,25a
	Elpida	85,00ab	60,00b	29,75b	4,00b	44,68d
	Mean (G)	79,50a	73,33a	53,95b	18,33c	
3 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	72,00b	75,00ab	58,00b	21,00b	56,50b
	Athina	80,00ab	80,00ab	61,00b	9,00b	57,50b
	Flora	88,00ab	76,00ab	58,00b	8,00b	57,50b
	FLIP 03-24L	72,00b	68,00ab	46,00b	14,00b	50,00bc
	Samos	95,00a	98,00a	93,00a	63,00a	87,25a
	Elpida	87,00ab	66,00b	30,75b	4,00b	46,93c
	Mean (G)	82,33a	77,16a	57,79b	19,83c	
4 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	73,00b	85,00a	68,00ab	22,00b	62,00b
	Athina	85,00ab	81,00a	64,75b	9,00b	59,93b
	Flora	90,00ab	80,00a	66,75ab	8,00b	61,18b
	FLIP 03-24L	73,00b	71,00a	46,00bc	16,00b	51,50c
	Samos	96,00a	98,00a	95,00a	65,75a	88,68a
	Elpida	88,00ab	75,00a	34,75c	4,00b	50,43c
	Mean (G)	84,16a	81,66a	62,54b	20,79c	
5 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	80,00ab	86,75a	75,00ab	28,50b	67,56b
	Athina	87,50ab	84,00a	68,75ab	9,75b	62,50b
	Flora	91,25ab	81,25a	72,50ab	9,00b	63,50b
	FLIP 03-24L	74,00b	71,50a	48,25bc	20,00b	53,43c
	Samos	96,50a	98,75a	96,50a	75,00a	91,68a
	Elpida	91,75ab	80,00a	35,75c	5,00b	53,12c
	Mean (G)	86,83a	83,70a	66,12b	24,54c	
6 <sup>th</sup>						Mean (C)

	Thessalia	80,00ab	88,75a	75,00ab	28,75b	68,12b
	Athina	87,50ab	83,75a	71,25bc	11,25b	63,43b
	Flora	93,75ab	82,50a	75,00ab	8,75b	65,00b
	FLIP 03-24L	75,25b	71,50a	47,00cd	20,00b	53,43c
	Samos	96,50a	98,75a	96,50a	77,50a	92,31a
	Elpida	91,75ab	80,00a	35,75d	6,25b	53,43c
	Mean (G)	87,45a	84,20a	66,75b	25,41c	
7 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	80,00ab	88,75a	73,75ab	28,75b	67,81b
	Athina	87,50ab	83,75a	70,00ab	11,25b	63,12b
	Flora	93,75ab	82,50a	73,75ab	10,00b	65,00b
	FLIP 03-24L	75,25b	71,50a	48,00bc	20,00b	53,68c
	Samos	96,50a	98,75a	96,50a	77,50a	92,00a
	Elpida	91,75ab	81,25a	35,75c	7,50b	54,06c
	Mean (G)	87,45a	84,41a	66,29b	25,62c	

Σημείωση: Σε κάθε μέτρηση (ημέρες), οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με την ΕΣΔ ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.3.2 Περιεχόμενη υγρασία (WC) και απορρόφηση νερού από τον σπόρο (WU)

Αναφορικά με τις τιμές WU και το WC, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν μια τάση μείωσης κατά την καταπόνηση, με τη μείωση να εξαρτάται από το επίπεδο καταπόνησης που εφαρμόζεται (Πίνακες 14 και 15). Όπως αναμενόταν, εν απουσία καταπόνησης, το WU και το WC αυξήθηκαν με την πάροδο του χρόνου σε όλες τις υπό μελέτη ποικιλίες. Αντίθετα, όλες οι ποικιλίες παρουσίασαν σημαντικά μειωμένη τιμή WU, σε σύγκριση με τους μάρτυρες στα 200 mM NaCl. Σε αυτή τη συγκέντρωση, η απουσία σχηματισμού βλαστών στις ποικιλίες Αθηνά, Flora και Flip 03-24L οδήγησε στη χαμηλότερη μείωση του WC.

Πίνακας 14: Απορρόφηση νερού από τον σπόρο (WU) (%) όπως επηρεάστηκε από τον γονότυπο (G) και την συγκέντρωση NaCl (C) μετά από 5, 7 και 11 ημέρες καταπόνησης αλατότητας.

Χρόνος (d)	Γονότυπος (G)	Συγκέντρωση NaCl (mM) (C)				
		0	50	100	200	
5 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	69,41b	66,14a	61,98a	56,21ab	63,43b
	Athina	69,65b	66,36a	63,26a	52,50b	62,94b
	Flora	75,07a	68,62a	64,32a	60,31a	67,08a
	FLIP 03-24L	68,34b	66,92a	63,97a	55,37ab	63,64b
	Samos	68,31b	65,46a	60,61a	60,72a	63,77b
	Elpida	69,17b	65,79a	62,81a	52,23b	62,50b
	Mean (G)	69,99a	66,55b	62,82c	56,22d	

7 <sup>th</sup>						Mean (C)
Thessalia	70,23ab	66,90a	59,91ab	53,22a		62,56abc
Athina	69,18ab	65,39a	57,08ab	51,61a		60,81c
Flora	74,06a	68,32a	57,96ab	51,55a		62,97ab
FLIP 03-24L	68,39b	66,49a	57,96ab	51,45b		61,07bc
Samos	71,44ab	65,18a	62,67a	53,77a		63,26a
Elpida	71,44ab	65,53a	55,67b	52,55a		61,29bc
Mean (G)	70,78a	66,30b	58,54c	52,35d		
11 <sup>th</sup>						Mean (C)
Thessalia	73,81a	68,35b	23,03b	21,17b		46,58c
Athina	76,63a	74,76a	60,08a	49,31a		65,19b
Flora	80,46a	78,14a	62,83a	51,71a		68,28ab
FLIP 03-24L	76,91a	75,56a	66,07a	52,04a		67,64ab
Samos	77,72a	76,19a	63,93a	57,51a		68,83a
Elpida	76,12a	73,89a	63,72a	55,30a		67,25ab
Mean (G)	76,94a	74,48a	56,61b	47,83c		

Σημείωση: Σε κάθε μέτρηση (ημέρες), οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με την ΕΣΔ ( $p \leq 0.05$ ).

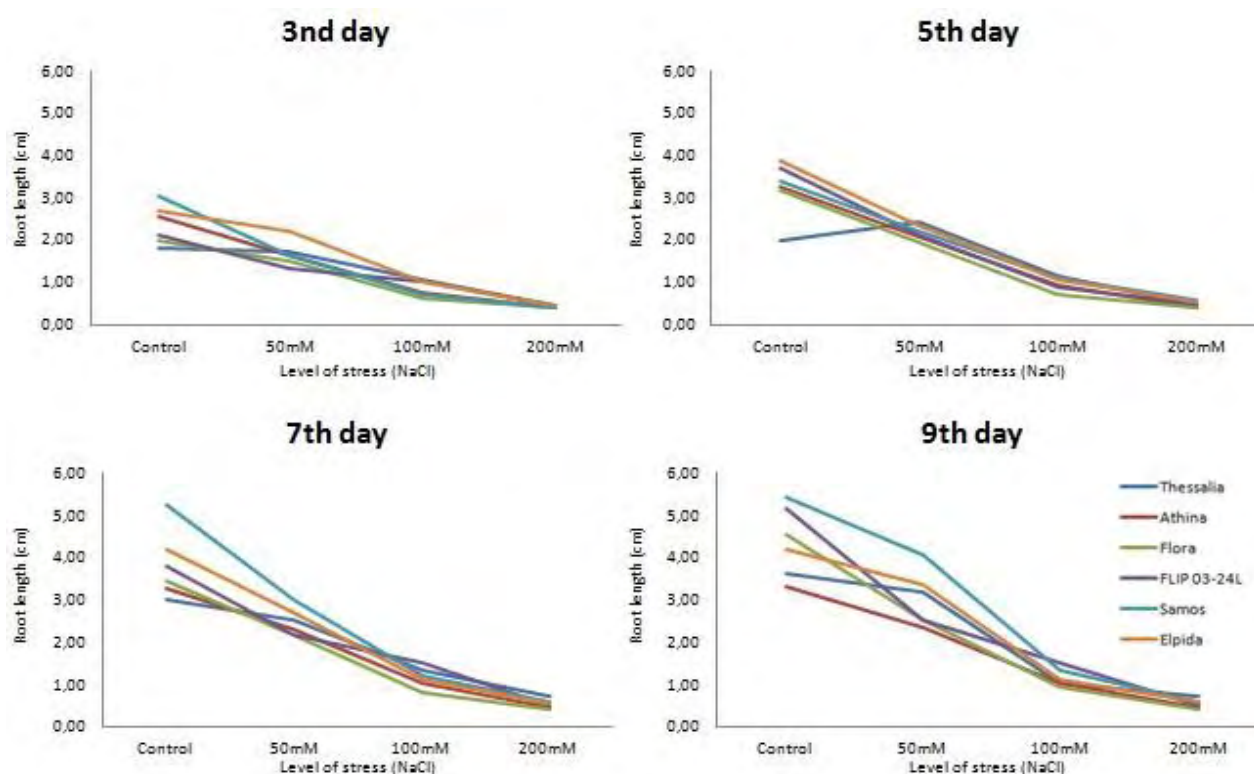
Πίνακας 15: Περιεχόμενη υγρασία (WC) (%) των σποροφύτων φακής όπως επηρεάστηκαν από τον γονότυπο (G) και την συγκέντρωση NaCl (C) μετά από 9 και 15 ημέρες καταπόνησης αλατότητας.

Χρόνος (d)	Γονότυπος (G)	Συγκέντρωση NaCl (mM) (C)				
		0	50	100	200	
9 <sup>th</sup>						Mean (C)
Thessalia	79,06b	78,55b	77,58bc	70,59c		76,44d
Athina	83,97ab	80,72ab	82,69ab	77,61b		81,24b
Flora	90,08a	87,32a	87,91a	87,24a		88,13a
FLIP 03-24L	81,04b	80,47b	76,20bc	77,54b		78,81c
Samos	85,01ab	80,41b	78,48b	72,62bc		79,13bc
Elpida	79,24b	77,40b	70,18c	68,38c		73,80e
Mean (G)	83,06a	80,81b	78,84c	75,66d		
15 <sup>th</sup>						Mean (C)
Thessalia	86,65bc	82,28bc	74,57b	68,44a		77,98cd
Athina	88,51ab	86,37b	80,85ab	71,79a		81,88b
Flora	91,75a	93,70a	88,16a	74,05a		86,91a
FLIP 03-24L	86,51bc	79,68c	79,16ab	73,12a		79,62bc
Samos	86,81bc	83,60bc	76,37ab	68,79a		78,89cd
Elpida	83,53c	81,66c	75,67ab	66,23a		76,77d
Mean (G)	87,29a	84,54b	79,13c	70,40d		

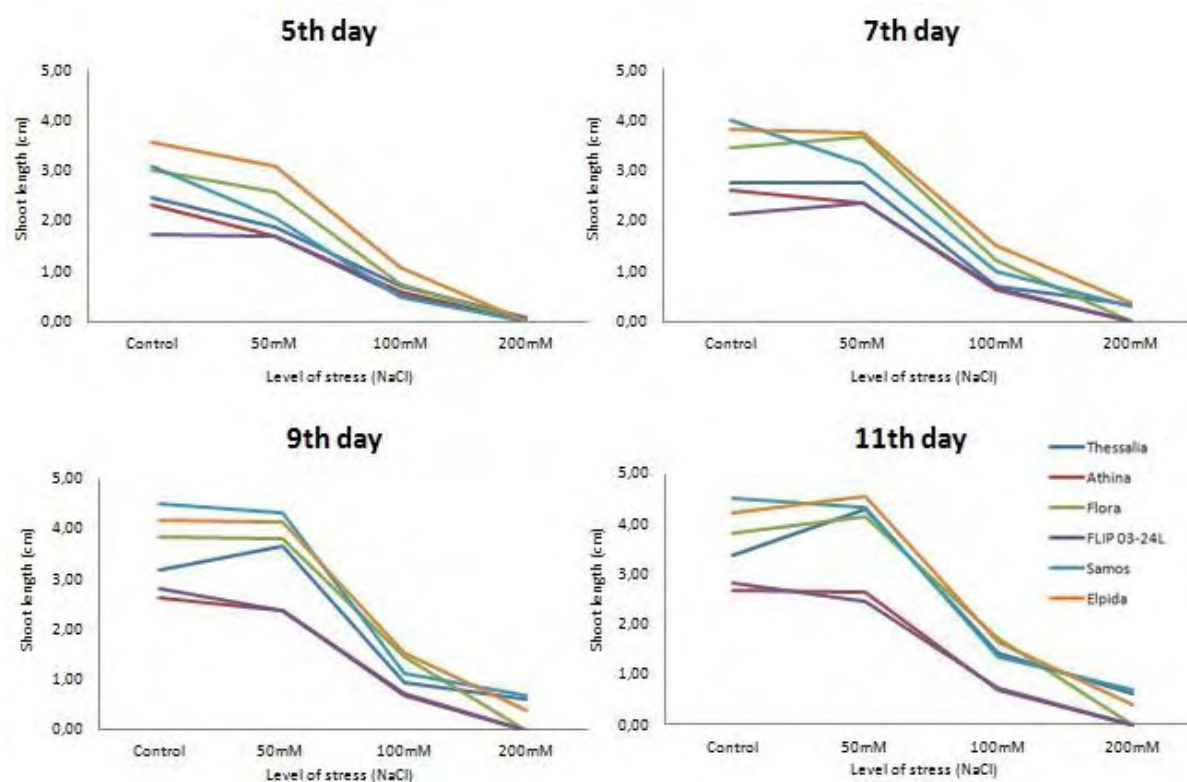
Σημείωση: Σε κάθε μέτρηση (ημέρες), οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με την ΕΣΔ ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.3.3 Μήκος βλαστού και ριζιδίου

Η ανάλυση των δεδομένων αποκάλυψε στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μήκος των ριζών και των βλαστών μεταξύ των ποικιλιών και των υπό μελέτη μεταχειρίσεων (Διαγράμματα 10 και 11). Αν και οι αυξημένες συγκεντρώσεις NaCl, οδήγησαν σε σημαντική μείωση τόσο του μήκους των ριζών όσο και των βλαστών, αυτοί οι τύποι ιστών παρουσίασαν διαφορετική απόκριση υπό συνθήκες καταπόνησης υψηλής αλατότητας. Συγκεκριμένα, μια προφανής μείωση στο μήκος του ιστού καταγράφηκε σε συγκεντρώσεις NaCl 50 και 100 mM για ρίζες και βλαστούς αντίστοιχα. Ωστόσο, το χαρακτηριστικό του μήκους της ρίζας δεν μπορούσε να παρέχει ακριβείς εκτιμήσεις για την ταξινόμηση των ποικιλιών σε σχέση με την ανοχή. Σε σχέση με το μήκος των βλαστών, η Θεσσαλία, η Σάμος και η Ελπίδα ήταν οι ποικιλίες με τις καλύτερες επιδόσεις, ενώ η Αθήνα, η Flora και η Flir 03-24L δεν κατόρθωσαν να αναπτύξουν βλαστούς στα 200 mM NaCl. Σύμφωνα με τα προαναφερθέντα ευρήματα, η Σάμος παρουσίασε το υψηλότερο SVI (Πίνακας 16). Παρά τα δραστικά αποτελέσματα στην επιμήκυνση των σποροφύτων, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το στρες αλατότητας δεν οδηγεί στην εμφάνιση φυτών με μη φυσιολογικό φαινότυπο, καθώς δεν παρατηρήθηκαν τέτοια φυτά.



Διάγραμμα 10: Μήκος ρίζας (cm) από έξι ποικιλίες φακής σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης αλατότητας επαγόμενης από PEG σε τέσσερα χρονικά διαστήματα



Διάγραμμα 11: Μήκος βλαστού (cm) από έξι ποικιλίες φακής σε τέσσερα διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης ξηρασίας επαγόμενης από PEG σε τέσσερα χρονικά διαστήματα

Πίνακας 16: Δείκτης ευρωστίας (SVI) (%) όπως επηρεάστηκαν από τον γονότυπο (G) και την συγκέντρωση NaCl (C) μετά από 7 και 15 ημέρες καταπόνησης αλατότητας

Χρόνος (d)	Γονότυπος (G)	Συγκέντρωση NaCl (mM) (C)				
		0	50	100	200	
7 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	220,00b	244,06ab	40,56c	17,25a	130,46b
	Athina	218,75b	188,44b	77,00ab	0,00b	121,04b
	Flora	375,00a	309,38a	73,75ab	0,00b	189,53a
	FLIP 03-24L	169,31b	178,75b	48,00bc	0,00b	99,01c
	Samos	386,00a	296,25a	86,85a	26,69a	198,94a
	Elpida	367,00a	325,00a	62,56abc	2,25b	189,20a
	Mean (G)	289,34a	256,97b	64,78c	7,69d	
15 <sup>th</sup>						Mean (C)
	Thessalia	260,00d	386,06a	129,06a	20,13b	198,81c
	Athina	262,50cd	217,75b	63,00bc	0,00c	135,81d
	Flora	375,00bc	342,38a	129,06a	0,00c	211,60c
	FLIP 03-24L	214,46d	178,75b	31,20c	0,00c	106,10e
	Samos	414,95ab	434,50a	168,88a	64,81a	270,78a
	Elpida	505,50a	390,00a	80,44b	2,63c	244,64b
	Mean (G)	338,73a	324,90a	100,27b	14,59c	

Σημείωση: Σε κάθε μέτρηση (ημέρες), οι τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα, μέσα σε κάθε παράγοντα, δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά σύμφωνα με την ΕΣΔ ( $p \leq 0.05$ ).

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 4.1 Μελέτη ανάπτυξης φυματίων και επίδρασή τους στην παραγωγικότητα

Σε αυτή τη μελέτη επιδιώξαμε την αξιολόγηση εννέα γονοτύπων φακής, τόσο ελληνικής όσο και ξένης προελεύσεως, που αναπτύχθηκαν κάτω από τις ίδιες συνθήκες οργανικής γεωργίας, χωρίς να έχουν υποβληθεί σε εμβολιασμό, με σκοπό την ανάπτυξη ενός πρωτοκόλλου μελέτης και παρατήρησης της ανάπτυξης των φυματίων στη φακή, τη διερεύνηση της ύπαρξης γενετικής παραλλακτικότητας ως προς τον αριθμό φυματίων και αλλά χαρακτηριστικά της ρίζας και τη συσχέτισή τους με την παραγωγικότητα. Υπάρχει αρκετή πληροφορία για άλλα ψυχανθή ως προς τη δημιουργία φυματίων, όχι όμως τόση για την φακή, πράγμα που οφείλεται στο πιο σύνθετο και δύσκολο στη μελέτη ριζικό της σύστημα συγκριτικά με αυτό των άλλων ειδών.

#### Αριθμός φυματίων

Όπως προαναφέραμε όλες οι ποικιλίες, ελληνικές και ξένες, δημιούργησαν φυμάτια και άρα είναι συμβατές με το ενδογενές ριζόβιο του εδάφους *Rhizobium leguminosarum*, πράγμα που ήταν ήδη γνωστό για τις ελληνικές ήδη προσαρμοσμένες ποικιλίες, όχι όμως για τις ξένες οι οποίες καλλιεργούνταν για πρώτη φορά στο συγκεκριμένο έδαφος.

Παρατηρήθηκε σημαντική παραλλακτικότητα μεταξύ των ποικιλιών ως προς τον αριθμό των φυματίων και τον ρυθμό ανάπτυξής τους. Ο αριθμός των φυματίων (στάδιο πλήρους άνθισης) κυμάνθηκε από 136 έως 281, με τις ποικιλίες Anicia και Rosana να καταλαμβάνουν τις πρώτες θέσεις. Οι Ελληνικές ποικιλίες έδειξαν γρήγορη αύξηση του αριθμού των φυματίων καταλαμβάνοντας τις 3 πρώτες θέσεις μέχρι και το στάδιο του 8ου σύνθετου φύλλου, χωρίς ωστόσο να συνεχίσουν στον ίδιο ρυθμό. Η μέγιστη αύξηση του αριθμού και της μάζας των φυματίων συμβαίνει όταν το φυτό φτάσει στη μέγιστη βλαστική ανάπτυξη και αρχίζει να μειώνεται με την εμφάνιση της ανθοφορίας (Saxena και Hawtin, 1981). Ο μέσος ρυθμός αύξησης των φυματίων μεταξύ των βλαστικών σταδίων ήταν 51% (1ο-4ο σύνθετο φύλλο), 56% (4ο-8ο σύνθετο φύλλο), 355% (8ο σύνθετο φύλλο-εμφάνιση ταξιανθιών) και 30% (εμφάνιση ταξιανθιών-πλήρης άνθιση).

Σε όλες τις υπό μελέτη ποικιλίες, εξαιρουμένης της ποικιλίας Δήμητρα, παρατηρήθηκε μια μεγάλη αύξηση του αριθμού των φυματίων μεταξύ του βλαστικού σταδίου του 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου και της εμφάνισης των ταξιανθιών, δηλαδή μεταξύ της 3<sup>ης</sup> και 4<sup>ης</sup> δειγματοληψίας. Η ποικιλία Δήμητρα εμφάνισε το μέγιστο της αύξησης τους μεταξύ του βλαστικού σταδίου του 4<sup>ου</sup> και 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλο, παρουσιάζοντας μια αύξηση της τάξης του 361%. Μεταξύ 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> δειγματοληψίας ο ρυθμός αύξησης των φυματίων μειώθηκε (30%), πράγμα που ήταν αναμενόμενο δεδομένου του ότι τα φυτά βρίσκονταν ήδη στο στάδιο της άνθισης όπου αρχίζουν και δημιουργούνται τα άνθη και οι λοβοί και οι ρυθμοί ανάπτυξης των φυματίων μειώνονται.

Όπως προαναφέρθηκε, υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ποικιλιών ως προς τον αριθμό των δημιουργηθέντων φυματίων. Οι Abi-Ghanem R. *et al.* (2011) βρήκαν ότι ο αριθμός των ριζικών φυματίων ανά φυτό επηρεάζεται σημαντικά από τις διαφορετικές ποικιλίες φακής, αλλά η μελέτη τους σταμάτησε σε στάδιο ανάπτυξης μόλις 6 εβδομάδων. Οι Hungria, M. και Bohrer T. (2000) επίσης βρήκαν σε πείραμά τους για το φασόλι ότι η ποικιλία επηρεάζει τον αριθμό των δημιουργηθέντων φυματίων με μετρήσεις που έγιναν σε φυτά ηλικίας 5 εβδομάδων. Στην παρούσα εργασία φάνηκε ότι η πορεία ανάπτυξης των φυματίων συνεχίζεται μέχρι και το στάδιο της πλήρους άνθισης και ότι η διακοπή της παρατήρησης σε πρώιμα στάδια μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα καθώς υπάρχουν διαφοροποιήσεις ανάμεσα στις ποικιλίες ως προς στον ρυθμό ανάπτυξης τους σε βάθος χρόνου και η εικόνα που λαμβάνεται από τα πιο πρώιμα στάδια ανάπτυξης μπορεί να διαφέρει από την τελική .

Όσο αναφορά άλλα ψυχανθή και ιδιαίτερα στο ρεβίθι, υπάρχει σημαντικός αριθμός αναφορών που δείχνει ότι η δημιουργία φυματίων στα ψυχανθή αποτελεί γενετικό χαρακτηριστικό καθώς έχουν βρεθεί σημαντικές διαφορές στην δημιουργία φυματίων μεταξύ γονοτύπων ρεβιθιού τους( Tellawi *et al.* 2007; Mensah και Olukoya, 2007; Gallani *et al.* 2005. Τα ευρήματά μας λοιπόν, υποστηρίζουν την ύπαρξη γενετικής διαφοροποίησης των ποικιλιών ως προς τη δημιουργία φυματίων.

## **ΡΙΖΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**

Η φακή, γενικά, είναι μια καλλιέργεια η οποία καλλιεργείται σε εδάφη όχι τόσο πλούσια σε θρεπτικά συστατικά και υπό την επίδραση διάφορων καταπονήσεων. Ένα πλουσιότερο ριζικό σύστημα μπορεί να αναμένεται να προσφέρει καλύτερη κατακράτηση της υγρασίας και των θρεπτικών συστατικών του εδάφους, αλλά δεν

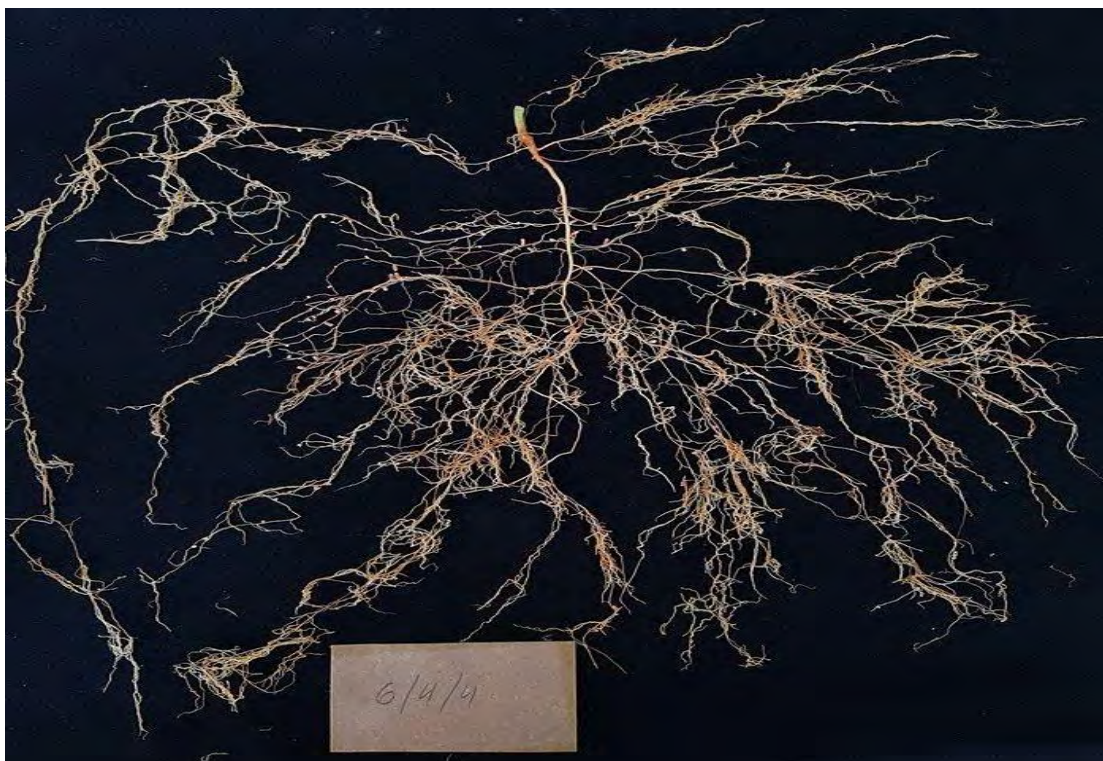


υπάρχει πολλή γνώση σχετικά με την γενετική ποικιλότητα του ριζικού συστήματος της φακής (Sarker *et al.*, 2005). Ακόμη λιγότερα είναι γνωστά για το εάν η γενετική ποικιλομορφία στο μήκος της ρίζας της φακής σχετίζεται με την καλύτερη πρόσληψη των θρεπτικών.

Έχουν αναφερθεί μεγάλες γονοτυπικές διαφοροποιήσεις στην ανάπτυξη της ρίζας από άποψη μήκους, αριθμού πλευρικών ριζών, συνολικό μήκος ρίζας και βάρους (Sarker *et al.*, 2015). Γονοτυπικές διαφοροποιήσεις έχουν παρατηρηθεί και επίσης στον ρυθμό ανάπτυξης των ριζών (Gahoonia *et al.*, 2005 Sarker *et al.*, 2005)

Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των ποικιλιών και ως προς το μήκος του ριζικού συστήματος και τον ρυθμό αύξησης του. Στο βλαστικό στάδιο του 8ου σύνθετου φύλλου το μήκος των ριζών κυμάνθηκε από 29,3 έως 245,1εκ. με την ποικιλία Δήμητρα να καταλαμβάνει την πρώτη θέση. Ο μέσος ρυθμός αύξησης του μήκους των ριζών μεταξύ των βλαστικών σταδίων ήταν 23% (1ο-4ο σύνθετο φύλλο) και 90% (4ο-8ο σύνθετο φύλλο).

Η πορεία ανάπτυξης του ριζικού συστήματος των διάφορων ποικιλιών βρέθηκε να συσχετίζεται με την πορεία ανάπτυξης των φυματίων στις ποικιλίες κατά τις τρεις πρώτες δειγματοληψίες όπου τα φυτά ήταν στο 1<sup>ο</sup>, 4<sup>ο</sup> και 8<sup>ο</sup> σύνθετο φύλλο. Η ποικιλία Δήμητρα φαίνεται να παρουσίασε μια έντονη ανάπτυξη των ριζών της μεταξύ της 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> δειγματοληψίας με τον ίδιο τρόπο που παρουσίασε και την αύξηση του αριθμού των φυματίων της. Οι Singh T. *et al.* (2006) βρήκαν σημαντικές διαφορές ως προς το μήκος του ριζικού συστήματος διάφορων γονοτύπων φακής. Επίσης, οι Sarker *et al.* (2005) στο πείραμά τους βρήκαν επίσης διαφορές στο μέγεθος της ρίζας μεταξύ των γονοτύπων. Οι μετρήσεις τους βέβαια συνεχίστηκαν και κατά το στάδιο της άνθισης, όπου και υπήρξαν διαφοροποιήσεις. Στην παρούσα έρευνα βρέθηκαν επίσης σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ποικιλίες ως προς αυτό το χαρακτηριστικό, με τις ελληνικές ποικιλίες να έχουν γενικά μεγαλύτερο μήκος ριζών έναντι των ξένων γονοτύπων. Δυστυχώς, λόγω του πολύ μεγάλου μεγέθους των ριζών (Εικόνα 6), κυρίως



Εικόνα 6: Ριζικό σύστημα κατά την 4<sup>η</sup> δειγματοληψία της ποικιλίας Santa η οποία παρουσίασε μια μέση εικόνα ως προς την συνολική έκταση του ριζικού συστήματος. Διακρίνεται το ήδη εκτενές ριζικό σύστημα.

στις ποικιλίες Θεσσαλία και Δήμητρα, δεν κατέστη δυνατή η περαιτέρω μέτρηση του μήκους τους στα επόμενα στάδια ανάπτυξης. Επειδή ο αριθμός των ριζών μπορεί να αυξηθεί και κατά την αναπαραγωγική φάση (Thorup-Kristensen, 1998; Voisin *et al.*, 2002) , φαίνεται να είναι σημαντική η λήψη δεδομένων και πέραν του σταδίου του 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα για το ποια ποικιλία διαμορφώνει το πλουσιότερο ριζικό σύστημα.

Υψηλή συσχέτιση καταγράφηκε μεταξύ του μήκους των ριζών και του αριθμού των φυματίων στην δεύτερη ( $R=0.889^{**}$ ) και τρίτη ( $R=0.963^{**}$ ) δειγματοληψία. Βρέθηκε λοιπόν να συσχετίζεται ο αριθμός των φυματίων με την έκταση του ριζικού συστήματος κατά τα πιο αρχικά στάδια ανάπτυξης. Λαμβάνοντας υπόψιν την αλλαγή πορείας ανάπτυξης των φυματίων κατά τα επόμενα στάδια, εάν ήταν εφικτό να συνεχιστεί και η καταμέτρηση του μήκους, τότε μάλλον αυτή η συσχέτιση θα έπανε να υπάρχει ή θα ήταν πολύ πιο αδύναμη.

Δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση του μήκους των ριζών με κάποιο άλλο από τα υπό μελέτη χαρακτηριστικά πέραν μιας μικρής συσχέτισης με το περιεχόμενο άζωτο

σπόρου και του ολικού αζώτου της υπέργειας βιομάζας. Αυτή η συσχέτιση μπορεί να είναι έμμεση και να οφείλεται στην δημιουργία των φυματίων.

Βρέθηκε να υπάρχει συσχέτιση εντός των γονοτύπων μεταξύ του μήκους της ρίζας και του αριθμού των φυματίων. Η συσχέτιση αυτή ήταν σε κάποιες ποικιλίες ισχυρότερη σε άλλες λιγότερο ισχυρή και διέφερε ανάμεσα στα στάδια ανάπτυξης. Το γεγονός αυτό τονίζει την γενετική παραλλακτικότητα ως προς το χαρακτηριστικό αυτό.

### **Παραγωγή και απόδοση σε σπόρο**

Η ποικιλία Σάμος (11,34 γρ.) έδωσε την μεγαλύτερη απόδοση σε σπόρο ακολουθούμενη από την ποικιλία Δήμητρα (8,96 γρ.). Οι ποικιλίες αυτές παρουσίασαν και τον μεγαλύτερο αριθμό φυματίων κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης κατά το στάδιο του 1<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου για όλες τις ποικιλίες ήταν  $R=0.527$ . Γενικά, σε όλες τις δειγματοληψίες των φυματίων φαίνεται να υπάρχει μια θετική συσχέτιση των δύο χαρακτηριστικών με την τιμή του συντελεστή συσχέτισης κατά την τελευταία δειγματοληψία (στάδιο πλήρους άνθησης) να είναι  $R=0,3$ . Οι Gul R. *et al* (2014) και Bhuiyan *et al.* (2008) σε πειράματά τους για το ρεβίθι αναφέρουν ότι δεν υπήρξε κάποια συσχέτιση του αριθμού των φυματίων των ποικιλιών και της απόδοσης τους σε σπόρο. Μάλιστα οι Gul *et al.* βρήκαν να υπάρχει και αρνητική συσχέτιση μεταξύ των δυο αυτών χαρακτηριστικών. Οι Vieira *et al.* (2001) αναφέρουν την μη ύπαρξη συσχέτισης και για τη σόγια. Με τα δεδομένα του πειράματός μας δεν ήταν εφικτή η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων σχετικά με την συσχέτιση του αριθμού των φυματίων και της απόδοσης σε σπόρο μέσα σε κάθε ποικιλία.

Έχουν αναφερθεί πολλές γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ του βάρους του σπόρου ανά μονάδα επιφάνειας και της υπέργειας ξηρής βιομάζας ανά μονάδα επιφάνειας σε πολλές καλλιέργειες. Μεταξύ αυτών αναφέρονται το σόργο (*Sorghum bicolor*) από τους Prihar και Stewart, (1990) και το καλαμπόκι με τα φασόλια, από τους Pilbeam *et al.*, (1996). Μια παρόμοια σχέση έχει επίσης δειχθεί για τον αραβόσιτο (Gardner και Gardner, 1983), το σόργο (Gardner και Gardner, 1983; Prihar και Gardner, 1991) τον αρακά (Hedley και Ambrose, 1981; Moot *et al.*, 1977) και τη φάβα (Loss *et al.*, 1998a). Τα ευρήματά μας έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα αυτά ( $R=0.777^*$ ).

## Αζωτοδέσμευση

Οι προσπάθειες βελτίωσης των φυτών επικεντρώθηκαν στην υψηλή απόδοση και την ανθεκτικότητα σε ασθένειες (Micke 1993). Αυτά τα χαρακτηριστικά πρέπει να διατηρηθούν, αλλά πρέπει να συνδυαστούν με χαρακτηριστικά που βελτιώνουν την οικονομία των καλλιεργειών, όπως η αυξημένη ικανότητα αζωτοδέσμευσης (Herridge και Rose 2000). Η αύξηση της δέσμευσης του αζώτου στις καλλιέργειες ψυχανθών μπορεί να αυξήσει την παραγωγικότητα τους και να μειώσει την χρήση λιπασμάτων αζώτου. Ακόμη, όπως και σε άλλα ψυχανθή έτσι και στην φακή, η διατροφική αξία του σπόρου ως προς το άζωτο εξαρτάται και από το άζωτο του εδάφους που απορροφάται από τις ρίζες αλλά κυρίως από την συμβιωτική δέσμευση του που συμβαίνει στα φυμάτια.

Μελέτες έχουν βρει ότι ο γονότυπος των καλλιεργειών, το στέλεχος του ριζόβιου και οι αλληλεπιδράσεις αυτών επηρεάζουν την δέσμευση αζώτου. Συγκεκριμένα οι Bello κ.ά. (1980) βρήκαν 70% και 25% μεταβλητότητα σε kg δέσμευσης N ha<sup>-1</sup> μεταξύ τριών ποικιλιών σόγιας σε δύο θέσεις. Οι Hafeez *et al.* (2000) βρήκαν 9% έως 48% ή 81% μεταβλητότητα μεταξύ πακιστανικών ποικιλιών φακής σε μια δοκιμή αγρού. Οι Abi-Ghanem R. *et al.* (2011) διαπίστωσαν σημαντική αλλά σχετικά χαμηλή μεταβλητότητα στο ποσό αζώτου από αζωτοδέσμευση με 14,4% και 4,7% αντιστοίχως, μεταξύ πέντε αμερικανικών ποικιλιών φακής και μπιζελιών.

Ο ρόλος της βιολογικής δέσμευσης, ειδικά στα όσπρια, είναι ισχυρά τεκμηριωμένος. Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι οι διάφορες ποικιλίες ψυχανθών συγκεκριμένα το μπιζέλι περιστεριού, τα κουκιά και το αμπελοφάσουλο, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές όσον αφορά την ικανότητά τους να την υποστηρίζουν (Hardarson 1993).

Η ποικιλία Σάμος παρουσίασε την μεγαλύτερη αζωτοδέσμευση χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά με τις υπόλοιπες ποικιλίες. Καταγράφηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του N που προέρχεται από την αζωτοδέσμευση με το N της υπέργειας βιομάζας ( $R=0,808^*$ ) και το N του σπόρου ( $R=0,838^*$ ). Η συσσώρευση αζώτου στη βιομάζα και η αζωτοδέσμευση στην φακή, φαίνεται να συγχρονίζονται σύμφωνα με σχετικές έρευνες (van Kessel 1994; Kurdali *et al.*, 1997)

Μια αξιοσημείωτη παρατήρηση ήταν ότι βρέθηκε να υπάρχει συσχέτιση της ποσότητας αζώτου από αζωτοδέσμευση και του αριθμού των φυματίων κατά την πρώτη

δειγματοληψία ( $R=0.908^{**}$ ). Το γεγονός αυτό της εξαιρετικά ισχυρής συσχέτισης σε συνδυασμό αφενός με την οπτική παρατήρηση ότι το μέγεθος των φυματίων διέφερε, και αφετέρου ότι στα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης τα φυμάτια μπορεί να έχουν διαφορετική συμβολή στην αζωτοδέσμευση, θεωρούμε πως χρήζει περεταίρω διερεύνησης. Ίσως από μια τέτοια διαπίστωση εξαχθεί το συμπέρασμα ότι τα πρώτα στάδια ανάπτυξης των φυματίων μπορούν καλύτερα να αποτελέσουν τη βάση για πρόβλεψη του αζώτου που θα αζωτοδεσμευτεί από κάθε ποικιλία. Όπως έχει προαναφερθεί στις έρευνες που διεξάχθηκαν ως τώρα δεν λαμβάνονταν δεδομένα σε πιο μεταγενέστερα στάδια, κάτι που πραγματοποιήθηκε στην δική μας περίπτωση, αλλά οι δειγματοληψίες τους σταματούσαν στο στάδιο του 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου.

Υπάρχει μια ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ της παραγωγής βιομάζας και της αζωτοδέσμευσης για έναν αριθμό ψυχανθών (Unkovich *et al.* 2010). Μια τέτοια συσχέτιση ανάμεσα στην παραγωγή βιομάζας και την πρόσληψη N έχει αναφερθεί τόσο για το μπιζέλι όσο και για την φακή (Biederbeck *et al.* 1996; Unkovich *et al.* 2010). Τα δεδομένα του πειράματός μας συμφωνούν με την υπάρχουσα βιβλιογραφία καθώς καταγράφηκε σημαντική συσχέτιση ( $R=0.871^{**}$ ) των δύο αυτών χαρακτηριστικών κατά το στάδιο του 1<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου.

Η ανάπτυξη των σπόρων εξαρτάται από την μετατόπιση του αζώτου που γίνεται από τους φυτικούς ιστούς (Pate and Flinn, 1973; Jensen, 1987; Schiltz *et al.*, 2005). Υπάρχουν διαφορές στις ποικιλίες ανάμεσα στο άζωτο που περιέχεται τελικά στο άχυρο.

Στο πείραμα των Hafeez F.Y *et al.* (2000) οι ποικιλίες με μεγαλύτερη παραγωγή αζώτου από αζωτοδέσμευση είχαν υψηλότερη απόδοση ξηρής ουσίας. Τα δικά μας ευρήματα μας οδήγησαν στην ίδια παρατήρηση. Οι ποικιλίες Σάμος και Δήμητρα που παρουσίασαν την μεγαλύτερη παραγωγή N αζωτοδέσμευσης είχαν και την μεγαλύτερη απόδοση ξηράς ουσίας κατά τη συγκομιδή, χωρίς ωστόσο να είναι στατιστικά σημαντική η διαφορά αυτή.

### **Δείκτης συγκομιδής**

Η δημιουργία ποικιλιών με υψηλή απόδοση σε σπόρο αποτελεί έναν από τους κύριους στόχους των βελτιωτικών προγραμμάτων στη φακή. Γενικά, τα ψυχανθή είναι γνωστό

ότι παράγουν επαρκώς υψηλή φυτική ύλη αλλά έχουν πολύ μικρή απόδοση σε σπόρο , με αποτέλεσμα τον χαμηλό δείκτη συγκομιδής (Jain, 1971). Οι Hedley και Ambrose (1981) και Ambrose και Hedley (1984), συμπέραναν ότι ο δείκτης συγκομιδής μεταξύ των φυτών βρώσιμου μπιζελιού (αρακά) ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών γονοτύπων. Ο Moot (1993) , σε πείραμά του σε ατομικά φυτά , κατέληξε στο ίδιο συμπέρασμα.

Στην περίπτωση μας, ο δείκτης συγκομιδής παρουσίασε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την απόδοση των ποικιλιών σε σπόρο, πράγμα που έρχεται σε συμφωνία με τον Singh (1977).

Η αύξηση του δείκτη συγκομιδής των καλλιεργειών είναι στο επίκεντρο των βελτιωτικών προγραμμάτων για την αύξηση της απόδοσης σε σπόρο και αυτό θα οδηγήσει σε μεγαλύτερη απομάκρυνση αζώτου από το σύστημα. Η φακή μπορεί να μετατρέψει αποτελεσματικά την βιομάζα σε σπόρο, επιτυγχάνοντας δείκτη συγκομιδής μέχρι και 50% (Materne, 2003).

Συμπερασματικά,

1. Αναπτύχθηκε τεχνική για την ασφαλή λήψη ολόκληρου του ριζικού συστήματος, την ηλεκτρονική σάρωση του και λήψη δεδομένων για τα βασικά χαρακτηριστικά της ρίζας.
2. Παρατηρήθηκε αξιόλογη ποικιλιακή παραλλακτικότητα ως προς τον αριθμό και τον ρυθμό αύξησης των φυματίων και την έκταση και τον ρυθμό αύξησης του ριζικού συστήματος των ποικιλιών αναδεικνύοντας δυο κύριους τύπους ποικιλιών ως προς τα ανωτέρω χαρακτηριστικά.
3. Ο ρυθμός αύξησης και ανάπτυξης των φυματίων ακολουθεί παρόμοια πορεία με τον ρυθμό αύξησης του ριζικού συστήματος των ποικιλιών μέχρι το στάδιο του 8<sup>ου</sup> σύνθετου φύλλου.
4. Οι ποικιλίες Σάμος και Δήμητρα συνδύασαν την μεγαλύτερη απόδοση σε σπόρο, τα μεγαλύτερα ποσά αζωτοδέσμευσης, την μεγαλύτερη παραγωγή ολικής βιομάζας, ολικού αζώτου υπέργειας βιομάζας και αζώτου περιεχόμενο στο σπόρο.
5. Η θετική συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ του αριθμού των φυματίων με την απόδοση σε σπόρο θα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω σε μεγαλύτερο

αριθμό γονοτύπων προκειμένου να συμπεριληφθεί στους στόχους των σύγχρονων βελτιωτικών προγραμμάτων.

#### **4.2 Καταπόνηση ξηρασίας επαγόμενης από PEG**

Η καλλιέργεια της φακής συχνά υποφέρει από την έλλειψη επαρκούς εδαφικής υγρασίας καθιστώντας έτσι αναγκαία τη βελτίωση της απόδοσης υπό συνθήκες ξηρασίας. Η επιτυχία σε μια τέτοια προσπάθεια εξαρτάται από την διαθεσιμότητα μεθοδολογιών επιλογής για το σαφή και αξιόπιστο προσδιορισμό γονοτύπων που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην ξηρασία. Δεδομένου ότι η φάση βλάστησης είναι ιδιαίτερα κρίσιμη για τον κύκλο ζωής των φυτών, το δυναμικό βλάστησης των σπόρων υπό συνθήκες καταπόνησης ξηρασίας έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί πολύτιμη παράμετρο για την εκτίμηση της γενετικής ανοχής στην ξηρασία (Kroghomou *et al.*, 1990; Grzesiak *et al.*, 1996; Singh *et al.*, 2017). Στόχο της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η αξιολόγηση έξι ποικιλιών φακής υπό συνθήκες καταπόνησης ξηρασίας. Για το σκοπό αυτό, οι υπό μελέτη γονότυποι υποβλήθηκαν σε διαφορετικά επίπεδα καταπόνησης ξηρασίας επαγόμενης από PEG και ακολούθησε η αξιολόγηση της ανθεκτικότητάς τους με βάση το δυναμικό βλάστησης των σπόρων και άλλων χαρακτηριστικών που σχετίζονται με τη βλάστηση και την πρόιμη ανάπτυξη των σποροφύτων.

Τα ευρήματα της μελέτης οδηγούν στο γενικό συμπέρασμα ότι η καταπόνηση ξηρασίας επηρεάζει σημαντικά τις παραμέτρους που σχετίζονται με την βλάστηση και την ανάπτυξη των σποροφύτων, με την επίδραση της ξηρασίας να είναι στις περισσότερες περιπτώσεις ανάλογη του επαγόμενου επιπέδου καταπόνησης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με ευρήματα σχετικών μελετών (Kaya *et al.*, 2006; Sadeghi *et al.*, 2011; Muscolo *et al.*, 2013; Idrissi *et al.*, 2015) και παρέχουν περεταίρω στοιχεία για την καταλληλότητα της πολυαιθυλενικής γλυκόλης για την πρόκληση καταπόνησης ξηρασίας στη φακή.

Το ποσοστό βλάστησης θεωρείται γενικά ως ενδεικτικό κριτήριο για τη σωστή εγκατάσταση σποροφύτων, καθώς και ως προς την απόδοση και το δυναμικό ανάπτυξης υπό συνθήκες έλλειψης νερού. Στη μελέτη μας, παρόλο που το τελικό ποσοστό βλάστησης έφτασε σχεδόν στο 100% για όλες τις ποικιλίες και τα επίπεδα στρες, το ποσοστό βλάστησης επηρεάστηκε αξιοσημείωτα από το επίπεδο της

καταπόνησης. Η πιο σοβαρή επίδραση στο ρυθμό βλάστησης καταγράφηκε στην ποικιλία Flip 03-24L, ενώ η Θεσσαλία, η Σάμος και η Ελπίδα εμφάνισαν τις υψηλότερες τιμές για αυτό το χαρακτηριστικό.

Η απορρόφηση νερού των σπόρων αποτελεί χαρακτηριστικό που σχετίζεται ιδιαίτερα με τη βλάστηση καθώς περιλαμβάνει την ενεργοποίηση των ενζύμων που διεγείρουν την υδρόλυση των αποθεμάτων αμύλου σε σάκχαρα που χρησιμεύουν ως πηγή ενέργειας για την εμφάνιση του ριζιδίου και την επιμήκυνση των ιστών (Bewley 1997, Bewley *et al.*, 2013). Σύμφωνα με τα δεδομένα βλάστησης των σπόρων, η WU παρουσίασε μια τάση μείωσης η οποία συσχετίστηκε αντιστρόφως με το επίπεδο του επαγόμενου στρες. Από αυτή την άποψη, σε υψηλό επίπεδο στρες η Θεσσαλία και η Flip 03-24L ήταν η καλύτερη και χειρότερη ποικιλία αντίστοιχα όσον αφορά την WU.

Μετά από τη φάση βλάστησης, κατά την οποία περιλαμβάνεται η εμφάνιση ριζιδίων, η ανάπτυξη του άξονα του βλαστού και της ρίζας θεωρούνται ως σημαντικά χαρακτηριστικά για την εκτίμηση της γενετικής ανοχής στην ξηρασία (Idrissi *et al.*, 2015). Σε σχέση με τον ρυθμό επιμήκυνσης των ριζών και των βλαστών, τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ότι το στρες ξηρασίας που προκαλείται από PEG επηρεάζει αρνητικά το μήκος και των δύο τύπων ιστού. Η παρατηρούμενη μείωση του μήκους ωστόσο ήταν συχνά αμελητέα στο χαμηλό επίπεδο στρες και καθίσταται περισσότερο δραστική στα υψηλότερα επίπεδα καταπόνησης. Η πιο δραστική μείωση παρατηρήθηκε στις ποικιλίες Σάμος και Flip 03-24L για το μήκος ρίζας και βλαστού αντίστοιχα, υποδεικνύοντας την ευαισθησία τους η οποία πιθανότατα αποδίδεται σε μειωμένο ρυθμό κυτταρικής διαίρεσης. Αντίθετα, η χαμηλότερη μείωση στο μήκος της ρίζας και του βλαστού της ποικιλίας Ελπίδα είναι ενδεικτική της καλύτερης αντοχής της σε συνθήκες έλλειψης νερού. Η παρατηρούμενη συσχέτιση μεταξύ του μήκους βλαστού και ρίζας έχει αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες. Αυτή η συσχέτιση προτείνεται να επιτρέψει μια έμμεση επιλογή για τα υπόγεια χαρακτηριστικά (ρίζα) που είναι πιο δύσκολο να μετρηθούν (Idrissi *et al.*, 2015).

Όσον αφορά το WC, τα αποτελέσματα δείχνουν μια πτωτική τάση σε αυξημένο επίπεδο καταπόνησης. Ωστόσο, τα αποτελέσματα για αυτό το χαρακτηριστικό δεν παρέχουν τη δυνατότητα να ταξινομηθούν με ακρίβεια οι ποικιλίες ανάλογα με τις επιδόσεις τους υπό συνθήκες καταπόνησης ξηρασίας.



Τα συνολικά αποτελέσματα καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι οι ποικιλίες Ελπίδα και Θεσσαλία είναι κυρίως ικανές να αντισταθούν στην αναστολή της βλάστησης και της πρώιμης ανάπτυξης κάτω από συνθήκες υδατικού ελλείμματος. Επιπλέον, τα συμπεράσματά μας υπογραμμίζουν τη δυνατότητα χρήσης αυτής της μεθοδολογίας για την ακριβή επιλογή υλικού με ανεκτικότητα στη ξηρασία σε πρώιμα στάδια ανάπτυξης. Είναι προφανές, ωστόσο, ότι η περαιτέρω επικύρωση και συσχέτιση με την απόδοση σε συνθήκες αγρού υπό συνθήκες ανεπάρκειας νερού είναι απαραίτητη προϋπόθεση για να εξασφαλιστεί η αξιοπιστία των πρώιμων επιλογών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αποτελεσματικότητα των πρώιμων διαδικασιών επιλογής μπορεί να ενισχυθεί περαιτέρω με την ανάπτυξη λειτουργικών δεικτών, όπως συγκεκριμένοι μεταβολίτες και γονίδια των οποίων η έκφραση συνδέεται με την ανθεκτικότητα. Η προσέγγιση αυτή αναμένεται να επιτρέψει την αξιόπιστη αναγνώριση των γονοτύπων που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην ξηρασία.

#### **4.3 Καταπόνηση υψηλής αλατότητας**

Η αλατότητα θέτει σοβαρό περιορισμό στην ανάπτυξη των καλλιεργειών και την παραγωγικότητα των ευαίσθητων φυτικών ειδών, συμπεριλαμβανομένης της φακής. Κατά τη διάρκεια της καταπόνησης υψηλής αλατότητας σε ένα φυτό, όλες οι μείζονες διεργασίες μεταβάλλονται και σε απόκριση στο στρες, οι ανθεκτικοί γονότυποι είναι ικανοί να επιβιώσουν σε έντονο στρες αλατότητας ή / και να περιορίσουν τις απώλειες απόδοσης υπό συνθήκες στρες.

Ενόψει της προοδευτικής αλατότητας των εδαφών σε παγκόσμιο επίπεδο, ιδιαίτερα στις άνυδρες και ημι-άνυδρες περιοχές όπου λαμβάνει χώρα η καλλιέργεια της φακής, η οικονομική βιωσιμότητα της καλλιέργειας θα βασίζεται όλο και περισσότερο στη δημιουργία των ποικιλιών με βελτιωμένη ανοχή στις συνθήκες αλατότητας και με σταθερότητα απόδοσης. Ο στόχος της βελτίωσης για καλύτερη απόδοση υπό συνθήκες αλατότητας, ωστόσο, εξαρτάται αναμφισβήτητα από τη διαθεσιμότητα των μεθοδολογιών επιλογής για μια αξιόπιστη επιλογή γενετικού ιστού ανθεκτικού στην αλατότητα.

Το δυναμικό βλάστησης των σπόρων σε συνθήκες στρες έχει αποδειχθεί ως αξιόπιστο εργαλείο για την εκτίμηση της γενετικής ανοχής. Αυτή η προσέγγιση καθιστά δυνατή την επιλογή καλύτερων ανεκτικών ποικιλιών σε πρώιμα στάδια ανάπτυξης,

επιτρέποντας έτσι τη διεξαγωγή όλων των επακόλουθων βελτιωτικών δραστηριοτήτων με πιο οικονομικό και χρονικά αποδοτικό τρόπο. Σε αυτό το πλαίσιο, η μελέτη αυτή στοχεύει στον προσδιορισμό του δυναμικού βλάστησης των σπόρων έξι ποικιλιών φακής που υποβάλλονται σε διαφορετικά επίπεδα στρες αλατότητας.

Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι η καταπόνηση της αλατότητας επηρεάζει ουσιαστικά όλα τα γνωρίσματα που σχετίζονται με τη βλάστηση και την πρώιμη ανάπτυξη των σποροφύτων, με την επίδραση της αλατότητας να εξαρτάται από το επίπεδο του επαγόμενου στρες. Ωστόσο, οι γονότυποι ανταποκρίθηκαν διαφορετικά σε διαφορετικά επίπεδα αλατότητας. Όσον αφορά τη βλάστηση, αυτές οι διαφορές αναφέρονται στο τελικό ποσοστό βλάστησης καθώς και στο ρυθμό βλάστησης. Τα αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με αυτά των σχετικών μελετών και παρέχουν στοιχεία ότι η αλατότητα δρα ως αναστολέας τόσο με την παρεμπόδιση της βλάστησης, χωρίς απώλεια βιωσιμότητας, σε υψηλά επίπεδα στρες και με καθυστέρηση της βλάστησης σε επίπεδα όπου η διαδικασία δεν αποτρέπεται εντελώς (Gulzar και Khan 2001; Buchade και Karadge 2014, Oujj *et al.*, 2015). Αν και το ποσοστό βλάστησης όλων των ποικιλιών μεταβλήθηκε ουσιαστικά στο υψηλό επίπεδο αλατότητας, τα πιο σοβαρά αποτελέσματα καταγράφηκαν στην ποικιλία Ελπίδα, ενώ η Σάμος παρουσίασε την καλύτερη απόδοση σε σχέση με αυτό το χαρακτηριστικό. Σύμφωνα με αυτά τα ευρήματα, η υδατική απορρόφηση των σπόρων, ένα χαρακτηριστικό που σχετίζεται ιδιαίτερα με τη βλάστηση, επηρεάστηκε αξιοσημείωτα σε όλες τις ποικιλίες. Σε υψηλό επίπεδο στρες, όμως, η Θεσσαλία επηρεάστηκε εξαιρετικά.

Εκτός από τη βλάστηση, η αύξηση των επιπέδων αλατότητας είχε ως αποτέλεσμα τη σταδιακή μείωση της ανάπτυξης των φυταρίων, η οποία εκφράστηκε με το μειωμένο μήκος ρίζας και βλαστού. Όπως ήταν αναμενόμενο, αυτή η μείωση του μήκους μεγιστοποιήθηκε σε υψηλή συγκέντρωση NaCl και πιθανότατα αντανάκλα το αποτέλεσμα τοξικών επιδράσεων σε συνδυασμό με ανεπαρκή θρεπτική και υδατική πρόσληψη (Majid *et al.*, 2013, Oujj *et al.*, 2015).

Επιπλέον, παρατηρήθηκε μεγάλη διαφορά στη μείωση του μήκους μεταξύ των οργάνων και μεταξύ των ποικιλιών. Πιο συγκεκριμένα, το μήκος των βλαστών και της ρίζας επηρεάστηκε διαφορετικά από την αλατότητα, με τις ρίζες να επηρεάζονται δραστικά ακόμη και σε χαμηλά επίπεδα στρες. Αυτό το εύρημα είναι σύμφωνο με προηγούμενες αναφορές και αποδίδεται στο γεγονός ότι οι ρίζες εκτίθενται άμεσα στην

αλατότητα (Ouji *et al.*, 2015). Στις μεταχειρίσεις υψηλής αλατότητας όμως το μήκος των βλαστών επηρεάστηκε έντονα σε όλες τις ποικιλίες, ενώ στην περίπτωση της Αθηνάς, της Flora και της Flip 03-24L υπήρξε πλήρης αποτροπή σχηματισμού βλαστών. Η απουσία βλαστών στην Αθήνα, στη Flora και στη Flip 03-24L είχε ως αποτέλεσμα την ταξινόμησή τους ως χειρότερες ποικιλίες αναφορικά με το WC και το SVI.

Αντίθετα, η συνδυασμένη επίδραση της υψηλής βλαστικότητας και του μήκους βλαστών κατέταξε την Σάμο ως την ποικιλία με τις καλύτερες επιδόσεις σε σχέση με το SVI. Παρά την υπεροχή της σε σχέση με άλλες ποικιλίες, η Σάμος φαίνεται να αδυνατεί να αναπτυχθεί σε υψηλό επίπεδο αλατότητας, όπως φαίνεται από την παρατηρούμενη μείωση τόσο της ρίζας όσο και του μήκους των βλαστών. Αυτή η παρεμπόδιση της επιμήκυνσης των ιστών *in vitro* πιθανότατα αποδίδεται στο γεγονός ότι η χρησιμοποιούμενη συγκέντρωση NaCl (200mM) υπερβαίνει το όριο ανοχής αλατότητας (ECt) των καλλιεργειών γενικότερα και ειδικότερα της φακής (EC > 2.2 dS m<sup>-1</sup> σε κορεσμένα εδαφικά εκχυλίσματα) (Nuttall και Armstrong 2010; Rameshwaran *et al.*, 2016). Από την άποψη αυτή, αναμένεται ότι η Σάμος θα παρουσιάσει ικανοποιητική απόδοση σε εδάφη με τα συνηθισμένα υψηλά επίπεδα αλατότητας. Τα συνολικά αποτελέσματα υπογραμμίζουν το συμπέρασμα ότι το χαρακτηριστικό της αντοχής της φακής στην αλατότητα παρουσιάζει ισχυρή γονοτυπική εξάρτηση, όπως εκδηλώνεται με τη διαφοροποίηση σε σχέση με τη βλάστηση και την πρόωμη ανάπτυξη κάτω από συνθήκες καταπόνησης αλατότητας. Επιπλέον, τα συμπεράσματά μας δείχνουν την ύπαρξη μεγάλων γενετικών διαφοροποιήσεων για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό μεταξύ των διαφορετικών γονότυπων φακής. Δεδομένης της προφανής αναγκαιότητας να εντοπιστούν νέες πηγές ανεκτικές στην αλατότητα, η παρατηρούμενη παραλλακτικότητα υπαγορεύει ότι σε μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να εξεταστεί ένας μεγαλύτερος αριθμός ποικιλιών φακής. Το πιο σημαντικό, αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν ότι οι διαφορές σε επίπεδο απόκρισης στο στρες δύνανται να διερευνηθούν στη φάση βλάστησης, παρέχοντας έτσι τη δυνατότητα για αξιόπιστη επιλογή γονότυπων ανεκτικών στην αλατότητα σε πρώιμα στάδια ανάπτυξης.

Τέλος, τα αποτελέσματα καταδεικνύουν την υπεροχή της Σάμου στην αντοχή στην καταπόνηση της αλατότητας, υποδεικνύοντας έτσι την πιθανότητα καλλιέργειας της υπό συνθήκες καταπόνησης αλατότητας καθώς και την καταλληλότητά της για χρήση

ως γενετικό υλικό σε σχετικά προγράμματα βελτίωσης. Αξίζει, ωστόσο, να τονιστεί ότι, δεδομένου ότι η απόδοση των ποικιλιών υπό εργαστηριακές συνθήκες και σε συνθήκες αγρού συχνά δεν είναι καλά συσχετισμένη, η αξιόπιστη κατάταξη της Σάμου ως ανεκτική στην αλατότητα θα πρέπει να αξιολογηθεί περαιτέρω και να επικυρωθεί υπό συνθήκες αλατότητας στον αγρό.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abdual-Baki A.A., Anderson J.D. (1973) Relationship between decarboxilation of glutamic acid and vigour in soybean seed. *Crop Science*, 13, 222-226.
- Afzal, S., M. Younas and K. Hussain. 1999. Physical and chemical characterization of the agricultural lands of the Soone Sakesar Valley, Salt Range, Pakistan. *Aust. J. Soil Res.*, 37: 1035-1046.
- Ahlawat, I. P. S. (2012). Agronomy – rabi crops, Lentil. Division of Agronomy Indian Agricultural Research Institute, New Delhi – 110 012 Agronomy.
- Alefeld F(1866) *Landwirts chaftliche Flora*. Wiegandt and Hempel, Berlin, Germany, pp 55-57ningrad Suppl 40:1-319
- Almansouri, M., Kinet, J.M., Lutts, S. 2001. Effect of salt osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil* 231: 243-25
- Arjenaki FG, Dehaghi MA, Jabbari R. 2011. Effects of priming on seed germination of Marigold (*Calendula officinalis*). *Adv Environ Biol*. 5:276280
- Arumuganathan, K. and Earle, E.D. (1991) Nuclear DNA Content of Some Important Plant Species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9, 208-218.
- Ashraf M, Bokhari H, Cristiti SN. 1992. Variation in osmotic adjustment of lentil (*Lens culinaris*, Medik) in response to drought. *Acta Bot Neerl*. 41:51 □ 62
- Ashraf, M. and A. Waheed, 1990. Screening of local/exotic accessions of lentil (*Lens culinaris*) for salt tolerance at two growth stages. *Plant Soil*, 128: 167-176.
- Ashraf, M. and P.J.C. Harris, 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci.*, 166: 3-16
- Begum, A.A., Leibovitch, L., Migner, P and Zhang, F. 2001. Specific flavonoids induced nod gene expression and pre-activated nod genes of *Rhizobium leguminosarum* increased pea (*Pisum sativum* L.) and lentil (*Lens culinaris* L.) nodulation in controlled growth chamber environments. *Journal of Experimental Botany*. 52: 1537–1543
- Bhardwaj K.R., (1975). Survival and symbiotic characteristics of *Rhizobium* in saline-alkali soils. *Plant and Soil*. 43. 377-385. 10.1007/BF01928501.
- Bhatty, R. S. 1988. Composition and quality of lentil (*Lens culinaris* Medik): a review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 21: 144-160.
- Bhuiyan, M.A.H., D. Khan, M.F. Hossain, and M..S. Ahmed (2008). Effect of rhizobium inoculation on nodulation and yield of chickpea in Calcareous soil. *Bangl. J. Agric. Res.*, 33 (4): 549-554
- Biederbeck VO, Bouman OT, Campbell CA, Bailey LD, Winkleman GE (1996) Nitrogen benefits from four greenmanure legumes in dryland cropping systems. *Can J Plant Sci* 76(2):307–315
- Black M., Pritchard H. (2002) Desiccation and survival in plants drying without dying. New York, CABI publishing: 93-110.
- Bray EA, Bailey-Serres J, Weretilnyk E (2000) Responses to abiotic stresses. *In* W Gruissem, B Buchannan, R Jones, eds, *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, pp 1158–1249
- Bremer, E., van Kessel, C., Nelson, L., Rennie, R.J. and Rennie, D.A. (1990) Selection of *Rhizobium leguminosarum* strains for lentil (*Lens culinaris*) under growth room and field conditions. *Plant and Soil* 121, 47–56.

- Brennan J, Aw-Hassan A, Quade K, Nordblom T (2002) Impact of Ashutosh and Shiv, 2011. Research on Australian Agriculture, Economic Research Report No. 11, NSW Agriculture.
- Chanway, C.P., Holl, F.B., and Turkington, R. (1989) Effect of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* genotype on specificity between *Trifolium repens* and *Lolium perenne*. *J Ecol* 77: 1150±1160.
- Chopra, J., Kaur, N., and Gupta A.K.A. 2002. Comparative developmental pattern of enzymes of carbon metabolism and pentose phosphate pathway in mungbean and lentil nodules. *Acta Physiologiae Plantarum*. 24: 67–72.
- Cokkizgin A, Munqez JY (2013) Lentil: Origin, Cultivation Techniques, Utilization and Advances in Transformation. *Agricultural Science* 1(1): 55-62.
- Cubero, J.I. 1981. Origin, taxonomy and domestication. In Webb, C. and G. Hawtin (eds.) *Lentils* pp. 15-38. CAB International, U.K.
- Cubero, J.I., de la Vega, M.P., and Fratini, R. 2009. Origin, phylogeny, domestication and spread. In: *The lentil: Botany, production and uses*. CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 13-33.
- Cubero, J.I. 1984. Taxonomy, distribution and evolution of the lentil and its wild relatives. In: *Genetic Resources and Their Exploitation-Chickpeas, Faba beans and Lentils*. Dordrecht, The Netherlands, pp. 187-203
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., and Shinozaki, K. (2011). Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biol.*11:163
- Deaker, R., Roughley, R.J. and Kennedy, I.R. (2004) Legume seed inoculation technology – a review. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1275–1288.
- Donald, C . M ., 1962 . In search of yield . *J . Aust . Inst . agric. Sci .* 28 : 171-178
- Donald, C.M. and Hamblin, J. (1976) The Biological Yield and Harvest Index of Cereals as Agronomic and Plant Breeding Criteria. *Advances in Agronomy*, 28, 361-405.
- Duke, J.A. 1981. *Handbook of legumes of world economic importance*. Plenum Press, New York. p. 52-57
- Erskine W. Lessons for breeders from land races of lentil, 1997 *Euphytica* 93 (1), 107-112
- Useful genetic diversity in germplasm collections of food and forage legumes from West Asia and North Africa, 1996 LD Robertson, KB Singh, W Erskine, AMA El Moneim *Genetic Resources and Crop Evolution* 43 (5), 447-460
- Erskine, W. (1985) Selection for pod retention and pod dehiscence in lentils. *Euphytica* 34, 105–112.
- Erskine, W. (1996) Seed-size effects on lentil (*Lens culinaris*) yield potential and adaptation to temperature and rainfall in West Asia. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 126, 335–341.
- Erskine W., J. Isawi, K. Masoud (1990) Single plant selection for yield in lentil. *Euphytica* 48; 113-116
- Erskine W., El Ashkar F. (1993) Rainfall and temperature effects on lentil (*Lens culinaris*) seed yield in Mediterranean environments. *Journal of Agricultural Science* 121; 347-354
- Evans, J. (2005) An evaluation of potential *Rhizobium* inoculant strains used for pulse production in acidic soils of south-east Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45, 257-268
- Evenari, M.L., Shanan, L., Tadmor, N., Aharoni, Y.(1961). “Ancient agriculture in the Negev”, *Science*, Vol. 133, pp.979-996.
- Finck, A., 1997. Soil salinity and plant nutritional status. In: *Proc. International Conference on Managing Saline Water for Irrigation*. Texas Tech. Univ., Lubbock, Texas. Pp. 199-210

- Flowers, T. J (2004) Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 55, 307-319.
- Flowers TJ, Muscolo A. 2015. Halophytes in a changing world. *AoB Plants* (in press).
- Gahoonia, T.S., Ali, O., Sarker, A., Nielsen, N.E. and Rahman, M.M. (2006). Genetic variation in root traits and nutrient acquisition of lentil genotypes. *J. Plant Nutrition* 29: 643-655
- Gahoonia, T. S., Ali, O., Sarker, A., Rahman, M. M., and Erskine, W. (2005). Root traits, nutrient uptake, multi-location grain yield and benefit–cost ratio of two lentil (*Lens culinaris*, Medikus.) varieties. *Plant Soil* 272, 153–161.
- Gan, Y.T., Miller, P.R., McConkey, B.G., Zentner, R.P., Stevenson, F.C. and McDonald, C.L. (2003) Influence of diverse cropping sequences on durum wheat yield and protein in the semiarid Northern Great Plains. *Agronomy Journal* 95, 245–252
- Giller and Cadisch, 1995 K.E. Giller, G. Cadisch Future benefits from biological nitrogen fixation in agriculture: An ecological approach *Plant and Soil*, 174 (1995), pp. 255-277
- Gul R., H. Khan, N. U. Khan and Fahim Ullah Khan. Characterization Of Chickpea Germplasm For Nodulation And Effect Of Rhizobium Inoculation On Nodules Number And Seed Yield. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 24(5): 2014, Page: 1421-1429 ISSN: 1018-7081
- Gunes, A., Inal, A., Adak, M.S., Alpaslan, M., Bagci, E.G., Erol, T. and Pilbeam, D.J. (2007) Mineral nutrition of wheat, chickpea and lentil as affected by mixed cropping and soil moisture. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 78, 83–96
- Hafeez, F.Y., Shah, N.H. and Malik, K.A. (2000) Field evaluation of lentil cultivars inoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* strains for nitrogen fixation using nitrogen-15 isotope dilution. *Biology and Fertility of Soils* 31, 65–69.
- Hanelt, P. (2001). *Lens* Mill. In P. Hanelt (Ed.), *Mansfeld's encyclopedia of agricultural and horticultural crops* (Vol. 2, 849–852). *Lens culinaris* Medicus Vorl. Churpf. Phys.-Okon. Ges., 2, 361 (1787).
- Harlan, J. R., 1992, *Crops and Man*, second edition American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Herrera, R., Aranguren, J., Escalante, G., Accardi, A.
- Hasegawa, Paul & Bressan, Ray & Zhu, Jian-Kang & Bohnert, H.J.. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51. 493-499.
- Hay, R.K.M. (1995). Harvest index – a review of its use in plant breeding and crop physiology. *Annals of Applied Biology* 126, 197–216
- Herridge, D., and I. Rose. 2000. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. *Field Crops Res.* 65:229-248
- Hohl, M. and P. Schopfer, 1991. Water relations of growing maize coleoptiles. *Plant Physiol.*, 95: 716-722
- Hubbell, D.H., and Kidder, G. (2003). *Biological Nitrogen Fixation*. Univ. Florida, IFAS Extension.
- Humphrey, D.R., Cummings, S.P. and Andrews, M. (2001). Comparison and tentative identification of *Rhizobiaceae* isolated from nodules of lentil grown in New Zealand and the United Kingdom. *Aspects of Applied Biology*. 63: 101–110
- Hungria, M. & Bohrer, T. *Biol Fertil Soils* (2000) 31: 45.

IBC (Institute of Biodiversity Conservation) (2007) Ethiopia: Second Country Report on the State of Plant genetic resources for food and agriculture to United Nations food and agricultural organization. Addis Ababa, Ethiopia.

Idrissi O, Houasli C, Nsarellah N (2013) Comparaison de ligne 'es avance 'es de lentille sous stress hydrique durant la phase de floraison et formation des gousses. *Nat Technol* 8:53–61

Iliadis, C. 2003. Influence of genotype and soil type on cooking time in lentil (*Lens culinaris* Medikus). *International Journal of Food Science and Technology* 38(1), 89-9

IPCC. 2007. Climate change 2007: synthesis report, contribution of working groups I, II and III to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. In: Pachauri RK, Reisinger A, editors. Core writing team. Geneva: IPCC; 104

Iqbal A., I.A. Khalil, N. Ateeq, M.S. Khan (2006) Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry* 97; 331-335

Jain, H . K ., 1971 . New plant types in pulses . *Indian Farming* 21(8) : 9-10

Joseph P, Gary W, Vincent H (2014) Lentils: Trends in Production, Trade, and Price. Briefing No. 61, Policy Center, Agricultural Marketing, Montana, USA.

Kahn, M.L., McDermott, T.R, and Udvardi, M.K (1998). Carbon and Notrogen Metabolism in Rhizobia, In: (Spaink, H.P., Kondorosi, A. and Hooakaas, P.J.J, Eds.) *The Rhizobiaceae:molecular biology og model plant-associated bacteria*, Kluxer Academiv Publishers.

KATERJI, N.; HOORN, J.W. van; HAMDY, A.; KARAM, F.; MASTRORILLI, M. Salt tolerance of crops according to three classification methods and examination of some hypothesis about salt tolerance. *Agricultural Water Management*, v.47, p.1-8, 2001

Katerji N., J.W, van Hoorn, A. Hamdy and M. Mastrorilli, 2003, *Agr. Water Manage.* 64, 37.

Kay, D. 1979. Food legumes. Tropical Development and Research Institute (TPI). TPI Crop and Product Digest No. 3, p. 26-47. London, UK

Kennedy IChoudhury AKecskés M. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1229–1244.

Khajeh, H.M., Powell, A.A., Bingham, I.J. 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soya bean seeds. *Seed Sci. Technol.* 31: 715-725

Khakwani AA, Dennett MD, Munir M. 2011. Drought tolerance screening of wheat varieties by inducing water stress conditions. *Songklanakarin J Sci Technol.* 33:135142

Khan M.A. & S. Gulzar, 2003.- Light, salinity, and temperature effects on the seed germination of perennial grasses. *Am. J. Bot.*, 90 (1), 131-134.

Khourgami A, Maghooli E, Rafiee M, Bitarafan Z (2012). Lentil response to supplementary irrigation and plant density under dry farming condition. *International Journal of Science and Advanced Technology* 2(2):51-55

Kulkarni, M. and Deshpande, U. (2007) In Vitro Screening of Tomato Genotypes for Drought Resistance Using Polyethyleneglycol. *African Journal of Biotechnology*, 6, 691-696

Kurdali, F., Kalifa, K. and Al-Shamma, M. (1997) Cultivar differences in nitrogen assimilation, partitioning and mobilization in rain-fed grown lentil. *Field Crop Res.*, 54(2-3), 235-243.

Ladizinsky G. (1979) The origin of lentil and its wild genepool. *Euphytica* 28; 179-187

Ladizinsky G., Braun D., Goshen D., Muehlbauer FJ (1984). The biological species of the genus *Lens* L. *BotGaz* 145:253-261

Lesk, C., Rowhani, P., and Ramankutty, N. (2016). Influence of extremeweather disasters on global crop production. *Nature* 529, 84–87



- Lutts, S., J.M. Kinet and J. Bouharmont, 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *J. Exp. Bot.*, 46: 1843-1852.
- Mahler, H. I. M., Kulik, J. A., Gibbons, F. X., Gerrard, M. and Harrell, J. (2003) Effects of appearance-based interventions on sun protection intentions and self-reported behaviors. *Health Psychology*, 22, 199– 209
- Mano, Y. and K. Takeda, 1997. Mapping quantitative trait loci for salt tolerance at germination and seedling stage in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Euphytica*, 94: 263-272.
- Martinez-Romero, E. (2003) Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspective. *Plant and Soil* 252, 11–23.
- May, S.N. and Bohlool, B.B. (1983) Competition among *Rhizobium leguminosarum* strains for nodulation of lentils (*Lens esculenta*). *Applied and Environmental Microbiology* 45, 960–965.
- McKenzie, B. A.; Hill, G. D. 1990: Growth, yield and water use of lentils (*Lens culinaris*) in Canterbury, New Zealand. *Journal of agricultural science, Cambridge* 114: 309-320.
- McVicar R, McCall P, Brenzil C, Hartley S, Panchuk K, et al. (2010) Lentil production manual. Saskatchewan Ministry of Agriculture and University of Saskatchewan, Saskatchewan pulse Growers, Canada.
- Miller, P.R., Gan, Y., McConkey, B.G. and McDonald, C.L. (2003) Pulse crops for the Northern Great Plains. II. Cropping sequence effects on cereal, oilseed, and pulse crops. *Agronomy Journal* 95, 980–986.
- Miller, P.R., McConkey, B.G., Clayton, G.W., Brandt, S.A., Staricka, J.A., Johnston, A.M., Lafond, G.P., Schatz, B.G., Baltensperger, D.D. and Neill, K.E. (2002) Pulse crop adaptation in the Northern Great Plains. *Agronomy Journal* 94, 261–272.
- Mishra, B.K., Growth, phenology, dry matter and nitrogen partitioning in lentil (*Lens culinaris* Medik.) under optimal and moisture stress conditions, Ph.D. Thesis, India: Banaras Hindu Univ., Dep. Plant Physiol., Inst. Agric. Sci., Varanasi, U.P., 2014
- Mishra, B.K., Srivastava, J.P., and Lal, J.P., Drought stress resistance in two diverse genotypes of lentil (*Lens culinaris* Medik.) imposed at different phenophases, *J.Food Legume*, 2014, vol. 27, pp. 307–314
- Misra U.K., M. Gonzalez-Gronow, G. Gawdi, J.P.Hart, C.E. Johnson, S.V. Pizzo The role of Grp 78 in  $\alpha$ 2-macroglobulin-induced signal transduction. Evidence from RNA interference that the low-density lipoprotein receptor-related protein is associated with, but not necessary for, GRP 78-mediated signal transduction *J. Biol. Chem*, 277 (2002), pp. 42082-42087
- Mittler, R., and Blumwald, E. (2010). Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 443–462
- Mittler R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends Plant Sci.* 11:15-19.
- Moawad, H., Badr El-Din, S.M.S. and Abdel-Aziz, R.A. (1998) Improvement of biological nitrogen fixation in Egyptian winter legumes through better management of *Rhizobium*. *Plant and Soil* 204, 95–106
- Muehlbauer, Bernd & Schwenk, M & M Coram, W & Antonin, Karl-Heinz & Etienne, P & Bieck, Peter & Douglas, Frank. (1991). Magnesium-L-aspartate-HCl and magnesium-oxide: bioavailability in healthy volunteers. *European journal of clinical pharmacology*. 40. 437-8. 10.1007/BF00265863
- Muehlbauer FJ, Cho S, Sarker A, McPhee KE, Coyne CJ, Rajesh PN, Ford R (2006). Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. *Euphytica* 147:149-165.
- Muehlbauer FJ, Cubero JI, Summerfield RJ (1985) Lentil (*Lens culinaris* Medik.). In: *Grain Legume Crops*. London, UK. p 266–311.

- Muehlbauer, F.J., W.J. Kaiser, S.L. Clement and R.J. Sumerfield. 1995. Production and breeding of lentil. *Advances in Agronomy* 54:283-332
- Muehlbauer FJ, Kaiser WJ, Hannan RM, Abebe Tullu (1998) Lentil crop production manual.
- Muehlbauer, F. J., Summerfield, R. J., Kaiser, W. J., Clement, S. L., Boerboom, C. M., Welsh-Maddux, M. M. & Short, R. W. (2002). Principles and practice of lentil production. Washington, dc: usda
- Mujeeb-ur-Rahman, Umed A.S, Mohammad Z., Shereen G. (2008) Effects of NaCl salinity on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars *World Journal of Agricultural Sciences*, 4 (3), 398-403
- Mulugeta F (2009) Ethiopia Commodity Exchange Authority; Lentil Production, Supply, Demand and Marketing issues in Ethiopia.
- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ.* 25:239-250.
- Murillo, A.B., López, A.R., Kaya, C., Larrinaga, M.J., Flores, H.A. 2002. Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. *Journal of Agronomy and Crop Science* 188(4): 235-247.
- Murray, U., Baldock, J., Forbes, M., 2010. Variability in Harvest Index of grain crops and potential significance for carbon accounting: Examples from Australian agriculture. *Advances in Agronomy* 105, 173-219.
- Muscolo A Sidari M Panuccio MR Santonoceto C Orsini F De Pascale S. 2011. Plant responses in saline and semiarid environments: an overview. *European Journal of Plant Science and Biotechnology* 5, 1–11.
- Mylona, P., Pawlowski, K., and Bisseling, T. (1995), Symbiotic nitrogen fixation. *Plant Cell*. 7: 869-885
- Nezamuddin, S. (1970). In *Pulse Crops of India*, pp. 306-324 (Eds P. Kachroo and M. Arif). New Delhi: ICAR.
- NICHIPOROVICH, A . A ., 1960 . Photosynthesis and theory of obtaining high crop yields . Fifteenth Timirjaze Lecture, U .S .S .R . Acad . Sci . (Translation and review by J . N . BLACK & D . J . WATSON ; *Field Crop Abst .* 13 : 169-175)) .
- Ozdemir S (2002) Grain legume crops. Hasad Publishing, Istanbul, Turkey, pp. 142.
- Okcu G, Kaya MD, Atak M. 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turk J Agric For.* 29:237-242.
- Pandey, A.N. and N.K. Thakares, 1997. Effect of chloride salinity on survival and growth of *Prosopis chilensis* seedlings. *Trop. Ecol.*, 3: 145-148.
- Peel, M.D., 1998. Crop Rotations for Increased Productivity. North Dakota State University extension Bulletin. 48
- Rai, R., S.K.T. Nasar, S.J. Singh & V. Prasad, 1985. Interactions between *Rhizobium* strains and lentil (*Lens culinaris* Linn.) genotypes under salt stress. *J Agric Sci* 104: 199–205.
- Rai, R. & R.P. Singh, 1999. Effect of salt stress on interaction between lentil (*Lens culinaris*) genotypes and *Rhizobium* spp. Strains: Symbiotic N<sub>2</sub> fixation in normal and sodic soils. *Biol Fert Soils* 29: 187–195.
- Regassa S, Dadi L, Mitiku D, Fikre A (2006) Impact of Technologies in Selected lentil Growing Areas of Ethiopia: EIAR Research report number 67
- Rehman, S., & Altaf, C. H. M. (1994). Karyotypic studies in *Lens culinaris* Medic, Ssp. *Macrocarpa* cv. Laird X Precoz. *Pak.J.Bot.*, 26(2), 347-352.
- Rhoades, J.D., Loveday, J. 1990. Salinity in irrigated agriculture. In 'Irrigation of Agricultural Crops', Editors Stewart, B.A. and Nielsen, D.R. pp. 1089-142.

Rochester, I.J., Peoples, M.B., Constable, G.A. and Gault, R.R. (1998) Faba beans and other legumes add nitrogen to irrigated cotton cropping systems. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 38, 253–260

Salehi M (2008). The Role of Financial Intermediaries in Capital Market, Zagreb. *Int. Rev. Econom. Bus.*, 6(1): 97-109.

Sarker, A., Erskine, W., and Singh, M. 2005. Variation in shoot and root characteristics and their association with drought tolerance in lentil landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52(1), 89-97.

Sarker, S., Lau, F., and Sahay, S. "Using an Adapted Grounded Theory Approach for Inductive Theory Building About Virtual Team Development," *Data Base* (32:1), 2001, pp. 38-56.

Saxena, M.C. 2009. Plant morphology, anatomy, and growth habit. In: *The lentil: Botany, production and uses*. CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 34-46

Saxena, M.C., 1993. The challenge of developing biotic and abiotic stress resistance in cool-season food legumes. In: K.B. Singh & M.C.Saxena(Eds.), *Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes*, pp. 3–14. Wiley, Chichester, United Kingdom.

Saxena, M.C., Hawtin G.C. (1981). Morphology and growth pattern. In Webb C. and Hawtin G. (eds.) *Lentils*, CAB International, U.K, pp. 39-52

Saxena, M.C., 1993. The challenge of developing biotic and abiotic stress resistance in cool-season food legumes. In: K.B. Singh & M.C. Saxena (Eds.), *Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes*, pp. 3–14. Wiley, Chichester, United Kingdom

Sehirali, S. (1988). Grain legume crops. Ankara University, Faculty of Agricultural Engineering, Ankara, Turkey 1089 (314), p. 435.

Shah, N.H., Hafeez, F.Y., Arshad, M. and Malik, K.A. (2002) Response of lentil to *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* strains at different levels of nitrogen and phosphorus. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40, 93–98

Shaheen R, Hood-Nowotny RC. 2005. Effect of drought and salinity on carbon isotope discrimination in wheat cultivars. *Plant Sci.* 168:901909

Shrestha, R., Turner, N.C., Siddique, K.H.M., and Turner, D.W., Physiological and seed yield responses to water deficit among lentil genotypes from diverse origins, *Aust. J. Agric. Res.*, 2006, vol. 57, pp. 903–915.

Shrestha, Pitambar & Subedi, Abishkar & Sthapit, Sajal & Rijal, Deepak & Gupta, Shalikram & Sthapit, Bhuwon. (2006). Community Seed Bank: reliable and effective option for agricultural biodiversity conservation. 4.

Silim SN, Saxena MC, Erskine W. 1993. Adaptation of lentil to the Mediterranean environment. II. Response to moisture supply. *Exp Agric.* 29:2128.

Silva JA, Uchida R (2000) Biological nitrogen fixation. Nature's partnership for sustainable Agricultural Production. Niftal center for BNF Technologies.

Singh KB, Saxena MC. 1990. Studies on drought tolerance: Annual report. Aleppo, Syria: ICARDA

Singh, G. 2009. Salinity related desertification and management strategies: Indian experience. *Land Degrad Develop.* 20: 367-385.

Singh, T.P. Harvest Index in Lentil . *Euphytica* (1977) 26: 833-839.

Slattey F., J & R. Coventry, D & J. Slattey, W. (2001). Rhizobial ecology as affected by the soil environment. *Animal Production Science.* 41. 289-298. 10.1071/EA99159.

- Slinkard, A.E., G. Bascur & G. Hernandez-Bravo. 1994. Biotic and abiotic stresses of cool season food legumes in the western hemisphere. In: F.J. Muehlbauer & K.J. Kaiser (Eds.), *Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes*, pp. 195–203. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Smit, G., Swart, S., Lugtenberg, B.J.J, and Kijne, J.W. 1992. Molecular mechanisms of attachment of Rhizobium bacteria to plant roots. *Molecular Microbiology*. 6: 2897–2903.
- Sonnante, G., Hammer, K., & Pignone, D. (2003). ITS sequence analysis and phylogenetic inference in the genus *Lens* mill. *Annals of Botany*, 91 (I), 49-54
- Stevenson, F.C. and van Kessel, C. (1996) The nitrogen and non-nitrogen rotation benefits of pea to succeeding crops. *Canadian Journal of Plant Science* 76, 735–745.
- Stockle, C.O.2001. Environmental impact of irrigation: a review. Pullman: State of Washington Water Research Center, Washington State University.
- Sullivan, P. (2003) Overview of Cover Crops and Green Manures. Available at: [www.attra.ncat.org/attra-pub/covercrop.html](http://www.attra.ncat.org/attra-pub/covercrop.html) (accessed 8 January 2008)
- Tester, Mark & Davenport, Romola. (2003). Na<sup>+</sup> Tolerance and Na<sup>+</sup> Transport in Higher Plants. *Annals of botany*. 91. 503-27. 10.1093
- Tilman, D., et al. (2011) Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 108, 20260–20264
- Tivoli B, Baranger A, Avila C, et al. (2006) Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica* 147223–253.
- TSUNODA, S ., 1959 . A development analysis of yielding ability in varieties of field crops . Leaf area percent and leaf ratio . Jap . J . Breed . 9 : 161-168 .
- Tuberosa R, Salvi S. 2006. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. *Trends Plant Sci*. 11:405-412
- Turner,N.C.,G.C.Wright&K.H.M.Siddique,2001.Adaptation of grain legumes (Pulses) to water-limited environments. *Adv Agron* 71: 193–231.
- Udvardi, M., and Poole, P.S. (2013). Transport and metabolism in legume-rhizobia symbiosis. *Annu.Rev. Plant Biol.* 64: 781-805.
- Udvardi MK, Day DA (1997) *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 48493-48523
- Ungar, I.A. 1996. Effects of salinity on seed germination, growth, and ion accumulation of *Atriplex patula* (Chenopodiaceae). *Amer.J.Bot.*83:62-67
- Unkovich, M.J. and Pate, J.S. 2000. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N<sub>2</sub> fixation by annual legumes. *Field Crops Research*. 65: 211–228
- Unkovich MJ, Baldock J, Peoples MB (2010) Prospects and problems of simple linear models for estimating symbiotic N<sub>2</sub> fixation by crop and pasture legumes. *Plant Soil* 329(1–2):75–89
- Vadez V., Rao J.S., Bhatnagar-Mathur P., Sharma K.K. DREB1A promotes root development in deep soil layers and increases water extraction under water stress in groundnut. *Plant Bio.* 2012;15:45–52
- Vadez V., Rao S., Kholova J., Krishnamurthy L., Kashiwaji J., Ratnakumar P., et al. (2008). Root research for drought tolerance in legumes: quo-vadis? *J. Food Legumes* 21, 77–85
- van Kessel, C. and Hartley, C. (2000) Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? *Field Crops Research* 65, 165–181.

van Schilfgaarde, Jan. (1994). Irrigation — a blessing or a curse. *Agricultural Water Management*. 25. 203-219. 10.1016/0378-3774(94)90061-2.

Vieira. R.F. (2001). Sewage sludge effect on Soybean growth and nitrogen fixation. *Biol. fertile Soil*. 34: 196-200

Vitousek, P.M., Cassman, K., Cleveland, C., Crews, T., Field, C. B. Grimm, N. B. Howarth, R. W., Marino, R., Martinelli, L., Rastetter, E.B. and J. I. Sprent, J.I. 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry*. 57&58: 1–45.

Wani, S.P., O.P. Rupela and K.K. Lee (1995). Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in grain legumes. *Plant and Soil* 174: 29-49

Weigand, S., Pala, M. and Saxena, M.C. (1992) Effect of sowing date, fertilizer and insecticide on nodule damage by *Sitona crinitus* Herbst (Coleoptera: Curculionidae) and yield of lentil (*Lens culinaris* Medik.) in northern Syria. *Zeitschrift fuer Pfl anzenkrankheiten und Pfl anzenschutz* (Germany, F.R.) 99, 174–181.

White, J., Prell, J. James E.K, and Poole P. (2007). Nutrient Sharing between Symbionts. *Plant Physiol*. 144: 604-614.

Winch T (2006) *Growing food: a guide to food production*. Springer publisher, Netherlands, pp. 333.

Williams JT, Sanchez AMC, Jackson MT (1974). Studies on lentils and their variation I. The taxonomy of the species. *SABRAO J*. 6: 133– 145.

Wiersema, J.H., and B. Leon. 1999. *World Economic Plants: A standard Reference*. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Wright, A.T. (1990) Yield effect of pulses on subsequent cereal crops in the northern prairies. *Canadian Journal of Plant Science* 70, 1023–1032

Yusuf, M., Singh, N.P., and Dastane, N.G., Effect of frequency and timings of irrigation on gain yield and water use efficiency of lentil, *Ann. Arid Zone*, 1979, vol. 18, pp. 127–134.

Yanni YG (1992) The effect of cyanobacteria and *Azolla* on the performance of rice under different levels of fertilizer nitrogen. *World J Microbiol Biotechnol* 8: 132-136

Yadav, S.S et al. (eds.), *Lentil: An Ancient Crop for Modern Times*, 127–143. © 2007 Springer.

Zahran, H.H. (2001) Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology* 91, 143–153.

Zeigler, R.S. and Puckridge, D.W. 1995. *Geo. J*. 35 : 307-324.

Zhu, J.K., 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 53: 247-273

### **Ελληνική βιβλιογραφία**

Δροσόπουλος, Β. Ι. (1992). Στοιχεία ανόργανης διατροφής των φυτών. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Δροσόπουλος Β.Ι 1998. Φυσιολογία Φυτών. Αθήνα: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ηλιάδης, Κ. (1992β). Φακή. Υπουργείο Γεωργίας, Έκδοση Διεύθυνσης Γεωργικών Εφαρμογών, Αθήνα.  
Έντυπο, σελ.51

Παπακώστα-Τασοπούλου Δ., (2005). Ειδική γεωργία 1, τεύχος Β, σελ: 161-178